

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. JOSÉ MATIAS DELGADO”
Facultad de Ciencias de la Salud
“Dr. Luis Edmundo Vásquez”
Escuela de Medicina
2009

TESIS PARA OPTAR POR EL TITULO DE
DOCTORADO EN MEDICINA

**“EFECTO DEL DIMETILSULFÓXIDO EN UN
MODELO ANIMAL DE ISQUEMIA –
REPERFUSIÓN RENAL”**

ALUMNOS:

Br. Roberto Jafet López Vega
Br. Jorge Alberto Ramos Iglesias
Br. Ileana Maria Medina Alfaro

ASESOR:

Dr. William Andres Hoyos Arango

Fecha: 19 de Febrero 2009

Agradecimientos especiales:

Al Dr. William Hoyos por su apoyo incondicional, por ser más que asesor, un compañero de equipo y amigo, guiándonos de principio a fin.

A Dra. Zayri García, por unirse a este trabajo con entusiasmo y sacrificio.

Dr. Carlos Flores por creer en la investigación desde el principio y por abrirnos las puertas a todo lo que estuvo al alcance de sus manos.

Dr. Salvador López por brindarnos su experiencia y conocimientos.

A Axa, Paola, Karen, Oscar, Ricardo, Fernando y Michael por su colaboración y apoyo.

A Hugo, Marcelo y todos aquellos que se cruzaron en este camino, su ayuda fue invaluable.

Perseguir la felicidad requiere de convicción de que ese objetivo está detrás de una cortina muy grande. Mi cortina ha sido todo lo que he dejado a un lado por llegar a este punto después de 9 años: El tiempo que te he quitado Jean, en esos días que no estuve, o que no podía dominar el cansancio y no estuve al 100% como quise, no te lo repongo, pero te lo entrego como ejemplo de lo que se puede lograr con esfuerzo. No espero ser tu modelo, sino un parámetro para que veas lo que quieres y lo que no quieres llegar a ser. Porque mi carrera ha durado lo que tú has vivido y en ambos casos, aun queda mucho pendiente. Mis horas familiares que jamás fueron reprochadas gracias a la confianza de mis padres en todas mis decisiones, dejándome aprender de las buenas y de las malas; sin ustedes: simplemente imposible. A ti que me apoyaste acomodando tu tiempo al mío con paciencia y sin dudar desde el principio hasta el final. Ante todo a Dios, por ser la fuente más importante de fuerza, coraje y determinación para no bajar los brazos en los peores momentos. Gracias infinitas y para ustedes mis logros.

Roberto Jafet López Vega

A mis padres, por su apoyo incondicional, por creer mis sueños e ideales. Por su ejemplo de superación incansable, su comprensión y confianza. Por ser un sostén de amor y coraje, por todo ese tiempo en que no pude estar ahí, pero el mismo en el que ustedes si estuvieron conmigo. Porque sin su apoyo no hubiera sido posible llegar hasta aquí. Los amo. A mis hermanos por su amor y amistad incondicional, por estar junto a mí durante todos estos años. A Usted, por toda su comprensión, apoyo y amor. Ante todo a Dios, porque gracias a Él no caí en los momentos difíciles, me guió y me sostuvo con su amor, dándome fortaleza, paciencia y fe. Gracias a todos ustedes

Ileana María Medina Alfaro

Mi familia, por soportar esos horarios extremos, el no verlos por días completos debido a las obligaciones que esta tan sacrificada carrera conlleva. Por soportar los cambios de humores y frustraciones en momentos menos adecuados y en muchas ocasiones sin razón alguna. No pueden faltar los amigos y colegas con los cuales se olvida por un momento las presiones y obligaciones para pasar un rato alegre. Los colegas por hacer más ameno el trabajo dentro y fuera del hospital al comentar anécdotas e historias que al final se convirtieron en experiencias para crecer más como personas y como Médicos. Sin menos importancia a Dios, que sin su ayuda y consentimiento nada de lo que hacemos día a día sería posible.

Jorge Ramos

Hoja de Aprobación

Contenidos

<i>PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA</i>	7
<i>DELIMITACIÓN DEL TEMA</i>	9
<i>JUSTIFICACIÓN DEL PROBLEMA</i>	10
<i>ANTECEDENTES</i>	12
<i>OBJETIVO GENERAL</i>	14
OBJETIVOS ESPECÍFICOS	14
<i>HIPÓTESIS</i>	15
<i>HIPÓTESIS DE INVESTIGACIÓN</i>	15
<i>HIPÓTESIS NULA</i>	15
<i>MARCO TEÓRICO</i>	16
<i>ANATOMÍA Y FISIOLOGÍA RENAL</i>	16
<i>IRRIGACIÓN RENAL</i>	16
<i>UNIDAD FUNCIONAL DEL RIÑÓN</i>	17
<i>INSUFICIENCIA RENAL AGUDA</i>	19
<i>DEFINICIÓN</i>	19
<i>CLASIFICACIÓN</i>	19
<i>EPIDEMIOLOGÍA</i>	19
<i>CAUSAS DE INSUFICIENCIA RENAL</i>	20
<i>DIAGNÓSTICO</i>	21
<i>SÍNDROME ISQUEMIA-REPERFUSIÓN</i>	22
<i>MECANISMO MOLECULAR</i>	23
<i>FASE DE REPERFUSIÓN</i>	24
<i>ALTERACIONES CELULARES</i>	24
<i>ALTERACIONES DEL ENDOTELIO VASCULAR</i>	25
<i>ENDOTELINA</i>	26
<i>OXIDO NÍTRICO (NO)</i>	29
<i>NEUTRÓFILOS</i>	31
<i>RADICALES LIBRES DE OXÍGENO</i>	32
<i>DIMETILSULFÓXIDO</i>	36

<i>HISTOPATOLOGÍA DE LA ISQUEMIA RENAL AGUDA</i>	43
<i>METODOLOGÍA</i>	47
<i>TIPO DE ESTUDIO</i>	47
<i>UNIDADES EXPERIMENTALES</i>	47
<i>GRUPOS EXPERIMENTALES</i>	47
<i>CRITERIOS DE INCLUSIÓN</i>	49
<i>CRITERIOS DE EXCLUSIÓN</i>	49
<i>ALEATORIZACIÓN DE LA MUESTRA</i>	49
<i>PREPARACIÓN PREQUIRÚRGICA.</i>	49
<i>ANESTESIA</i>	49
<i>PREPARACIÓN DEL ÁREA QUIRÚRGICA</i>	50
<i>ACCESO VENOSO</i>	50
<i>PROCEDIMIENTO QUIRÚRGICO.</i>	51
<i>INTERVENCIÓN TERAPÉUTICA</i>	52
<i>EUTANASIA</i>	52
<i>TOMA DE MUESTRAS</i>	53
<i>ANÁLISIS DE LAS MUESTRAS</i>	54
<i>ANÁLISIS ESTADÍSTICO</i>	55
<i>VARIABLES</i>	56
<i>VARIABLES INDEPENDIENTES</i>	56
<i>VARIABLES DEPENDIENTES</i>	56
<i>RESULTADOS</i>	57
<i>CREATININA SÉRICA</i>	57
<i>NITRÓGENO UREICO</i>	60
<i>UREA SÉRICA</i>	62
<i>RESULTADOS DE HISTOPATOLOGÍA.</i>	64
<i>DISCUSIÓN</i>	70
<i>CONCLUSIONES</i>	79
<i>RECOMENDACIONES</i>	81
<i>CRONOGRAMA DE ACTIVIDADES</i>	82
<i>ESTIMACIÓN DE PRESUPUESTO</i>	83
<i>ANEXO</i>	84
<i>BIBLIOGRAFÍA</i>	85

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

En sus inicios el trasplante renal jugó un papel importante en el tratamiento de la insuficiencia renal terminal, muchos de estos trasplantes resultaban fallidos a consecuencia de complicaciones extensamente estudiadas, entre ellas la Insuficiencia Renal Aguda por síndrome de isquemia-reperfusión como factor determinante en el funcionamiento del órgano trasplantado y en la supervivencia del paciente.

La insuficiencia renal aguda resultante del cese de la perfusión glomerular en pacientes hospitalarios se convierte en un reto terapéutico en el que se aplican medidas heroicas para la preservación de la vida del paciente.

El afán por conservar la anatomía y funcionalidad de la unidad renal tras eventos de isquemia y reperfusión ha llevado a diferentes investigadores a la realización de estudios en los que se busca aminorar o eliminar el daño renal, mediante la utilización de diferentes sustancias con efectos terapéuticos sobre los mecanismos fisiopatológicos de este síndrome.

El Dimetilsulfóxido (DMSO) como agente terapéutico ha sido objeto de estudio en diferentes situaciones y órganos pues posee entre sus principales cualidades un efecto antioxidante y una excelente disponibilidad y transporte a través de las membranas biológicas. Se ha probado como agente preventivo en el daño por reperfusión hepática, y como agente capaz de revertir las consecuencias y la sintomatología neurológica resultante de la hipoperfusión cerebral crónica en ratas.

Dadas las características y atributos del DMSO y conocidas las implicaciones de la isquemia y reperfusión renal se buscó con este estudio dar respuesta a la siguiente pregunta de investigación:

¿Qué efecto tiene el Dimetilsulfóxido en la protección renal de un modelo animal de isquemia a diferentes tiempos con posterior reperfusión, tomando como indicadores de daño la afectación histológica, los niveles de creatinina, nitrógeno ureico y urea?

DELIMITACIÓN DEL TEMA

Todas aquellas circunstancias clínicas que involucran el cese o disminución del flujo renal como la hipovolemia, la vasodilatación periférica o el aumento de la resistencia vascular prolongada ocasionan una agresión tisular secundaria a la anoxia donde la depleción de metabolitos y el acumulo de sustancias de desecho conducen a la muerte celular y al fracaso funcional renal.

El estudio planteó la posibilidad del uso terapéuticos del DMSO como agente antioxidante al incidir sobre mecanismos fisiopatológicos determinantes en el daño tisular renal derivado del síndrome de isquemia reperfusión en un modelo animal de experimentación en conejos.

Las unidades experimentales fueron conejos machos de raza New Zealand con un peso entre $2.5\text{kg} \pm 1\text{kg}$ a los que se indujo isquemia mediante oclusión del paquete vascular renal con posterior restauración del flujo y observación por 6 horas.

El trabajo se realizó en 2 fases; en la primera de ellas se contempló la fase experimental para la cual se ha estableció un tiempo comprendido entre Julio y Octubre del año 2008 y una segunda fase en la que se realizó el análisis de los resultados y se elaboró el informe final entre los meses de Noviembre de 2008 a Enero de 2009. La fase experimental se realizó en los laboratorios pertenecientes a la Escuela de Medicina de la Facultad de Ciencias de la Salud Dr. Luis Edmundo Vásquez ubicados en el campus I.

JUSTIFICACIÓN DEL PROBLEMA

La Insuficiencia renal aguda (IRA) es un síndrome clínico caracterizado por una disminución brusca de la perfusión glomerular trayendo como consecuencia una serie de alteraciones fisiológicas traducidas en oliguria/anuria, retención nitrogenada, acidosis y retención de potasio. Su etiología es múltiple y su morbi-mortalidad continúa siendo elevada mostrando una incidencia hospitalaria que oscila entre el 5% y 30% en pacientes admitidos a las unidades de cuidados intensivos.¹

En El Salvador esta patología se sitúa dentro de las primeras 10 causas de muerte hospitalaria entre los años 2000 a 2006².

Estudios estadísticos indican que el fracaso renal agudo en el medio hospitalario representa una mortalidad cercana al 50% pese a todos los esfuerzos y terapias implementadas para su disminución la mortalidad ha permanecido prácticamente estática a lo largo de varias décadas, contrario a lo ocurrido con otras entidades clínicas de etiología isquémica como el infarto agudo del miocardio³. La situación se torna mucho más preocupante en las unidades de cuidados intensivos donde cerca del 30% de los pacientes llega a presentar fracaso renal agudo con una mortalidad cercana al 80%⁴.

El Síndrome Isquemia-Reperusión es el resultado de una agresión tisular secundaria a la anoxia, depleción de metabolitos y acumulo de sustancias de desecho que conducen a la muerte celular. La lesión hipóxica celular puede ser causada por pérdida del riego sanguíneo, agotamiento de la capacidad de la sangre para transportar oxígeno, o envenenamiento de las enzimas oxidativas intracelulares.⁵

El deterioro de la función renal debido a este síndrome reviste un problema importante para los pacientes en estado crítico donde llegan a converger circunstancias varias que

se derivan en la lesión por reperfusión, dichas circunstancias pueden clasificarse de una manera generalizada en: hipovolémicas, cardíacas, por vasodilatación periférica, por el incremento de la resistencia vascular por obstrucción vascular renal o lesiones vasculares.⁶

ANTECEDENTES

Los mecanismos que ocasionan la isquemia renal son ampliamente conocidos, pero los efectos de esta condición continúan siendo objeto de estudio con el fin de encontrar nuevas posibilidades terapéuticas o mejorar las terapias actuales a manera de reducir las complicaciones y la alta mortalidad existente hasta el momento.⁶

Durante los últimos años se han realizado múltiples estudios para la identificación de los cambios morfológicos y funcionales a nivel celular.^{5,7} La importancia de estos estudios radican en el esclarecimiento de los mecanismos fisiopatológicos en el síndrome de isquemia reperfusión a manera de influir sobre puntos críticos y reducir o revertir los daños causados.

En el año 2006 Guerra y cols⁶. Estudiaron las consecuencias funcionales de la isquemia en los riñones de ratas dispuestas en 4 grupos expuestos al mismo grado de isquemia con diferencia en el tiempo de duración (30 min, 45 min y 60 min) con la oclusión bilateral de las arterias renales, el objetivo de esta investigación fue determinar el tiempo necesario para causar detrimento en la función y morfología histológica renal. Los resultados concluyeron que el efecto de la isquemia es directamente proporcional al tiempo de isquemia.

Luego de transcurrido el tiempo de isquemia se le realizó a cada animal el aclaramiento plasmático del ácido paramino-hipúrico (PAH) e inulina (I) para medir flujo plasmático renal (FPR) efectivo y la intensidad de filtración glomerular (IFG), para el posterior cálculo de la fracción de filtración. En las medias obtenidas se evidencio la disminución progresiva de cada una de las variables en forma proporcional directa al tiempo de isquemia, siendo el IFG el que presento mayor reducción porcentual.

La búsqueda de sustancias que tengan como efecto disminuir el daño renal post isquemia es un paso más para el establecimiento de alternativas terapéuticas en pacientes con compromiso isquémico renal. Torres y col.⁷ en el estudio "Prevención del daño renal tras isquemia aguda mediante administración de PGE1"(Prostglandina E1), sometieron a 48 ratas macho adultas de la raza Wistar a nefrectomía derecha simple. Las unidades experimentales se dividieron en dos grupos, el primero de los grupos fue infundido con PGE1 tras el pinzamiento renal y en otro grupo fue infundido con solución salina normal tras el pinzamiento renal. Los tiempos de isquemia fueron de 15 minutos y 1 hora. Tras los períodos de recuperación de 24 horas y 7 días los animales fueron sacrificados. Los riñones derechos (grupo control) y los izquierdos (experimentales) se estudiaron histológica y morfométricamente en este trabajo se demostró que las lesiones de necrosis tubular aguda fueron más evidentes en el grupo de ratas sometidas a la infusión de solución salina. Estos resultados apoyan la premisa de que sustancias con efecto antioxidante pueden disminuir el daño tisular en eventos de isquemia reperfusión.

OBJETIVO GENERAL

- Determinar el efecto que posee el DMSO en la protección renal de un modelo animal de isquemia a diferentes tiempos con posterior reperfusión; tomando como indicadores de daño la afectación histológica, los niveles de creatinina, nitrógeno ureico y urea.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Crear un modelo de isquemia – reperfusión renal en conejos.
2. Establecer el impacto de la isquemia renal sobre la función renal y su relación con el tiempo de oclusión de la arteria renal y posterior establecimiento del flujo sanguíneo.
3. Evaluar el efecto del DMSO administrado en forma endovenosa 10 minutos previo al inicio de la isquemia, sobre los niveles de creatinina sérica, nitrógeno ureico y daño tisular en un modelo experimental de isquemia reperfusión renal a los 30, 60 y 90 minutos.
4. Evaluar el efecto del DMSO administrado en forma endovenosa 10 minutos posterior al inicio de isquemia, sobre los niveles de creatinina sérica, nitrógeno ureico y daño tisular en un modelo experimental de isquemia reperfusión renal a los 30, 60 y 90 minutos.

Hipótesis

Hipótesis de investigación

La administración de Dimetilsulfóxido (DMSO) aplicado de forma endovenosa a conejos sometidos a isquemia renal aguda con posterior reperfusión disminuye las lesiones causadas por el síndrome de isquemia-reperfusión en los riñones de dichos animales.

Hipótesis nula

La administración de Dimetilsulfóxido (DMSO) aplicado de forma endovenosa a conejos endovenosa sometidos a isquemia renal aguda con posterior reperfusión no disminuye las lesiones propias causadas por el síndrome de isquemia-reperfusión en los riñones de dichos animales.

MARCO TEÓRICO

ANATOMÍA Y FISIOLOGÍA RENAL

Los riñones son dos órganos situados en la pared posterior del abdomen en el espacio retroperitoneal. Cada uno pesa aproximadamente 150 g, y mide ± 10 cm de longitud, ± 5 cm anchura y ± 2.5 cm de grosor, en el humano. En su borde medial cada riñón posee un hilio renal, sitio donde penetra la arteria renal y de donde emergen la pelvis y la vena renal. La vena renal se encuentra anterior a la arteria renal, la cual a su vez esta delante de la pelvis renal.^{8,2} Si se practica un corte longitudinal se observan dos regiones: corteza y medula, la medula cuenta con numerosas masas de tejido llamadas pirámides renales cuyas bases nacen en el límite entre la corteza y la médula y terminan en la papila que penetra en el espacio de la pelvis renal. El borde externo de la pelvis se divide en los cálices mayores, los cuales se extienden por abajo y forman los cálices menores que recogen la orina de los túbulos de cada papila.⁹

Irrigación renal

El flujo sanguíneo de ambos riñones constituye aproximadamente el 20% del gasto cardiaco. La arteria renal, rama de la aorta abdominal, penetra en el riñón a través del hilio, ramificándose internamente de manera que el riñón sea un órgano ricamente vascularizado. El drenaje venoso está a cargo de la vena renal, la cual desemboca en la vena cava inferior.

La circulación renal es peculiar por contar con dos lechos capilares, el glomerular y el pretubular, sus capilares están dispuestos en serie y separados por las arteriolas eferentes, las cuales ayudan a regular la presión hidrostática en los dos grupos de capilares. Una presión hidrostática elevada en los capilares glomerulares (± 60 mm Hg)

produce una filtración de líquido rápida, mientras que una presión hidrostática mucho más baja en los capilares peritubulares (± 13 mm Hg) permite una rápida reabsorción de líquidos. Los capilares peritubulares se dirigen a los vasos del sistema venoso y forman posteriormente la vena interlobulillar, la vena arciforme, la vena interlobular, y la vena renal, que sale del riñón al lado de la arteria renal y el uréter.²

Unidad funcional del riñón

El conjunto de glomérulo, cápsula renal y túbulo renal constituye la nefrona unidad funcional del riñón. Se estima que el riñón humano contiene alrededor de 1 millón de nefronas. La mayor parte de ellas se encuentran situadas en la zona cortical y solo la porción de la nefrona constituida por el asa de Henle se encuentra en la zona medular.

El glomérulo consiste en una red de capilares anastomosados bordeados por un epitelio fenestrado recubierto por dos capas de epitelio. El epitelio visceral incorpora y forma parte de la pared capilar separada de las células endoteliales por la membrana basal. El epitelio visceral delimita el espacio de Bowman, cavidad en la cual el primer producto del filtrado del plasma se colecta.¹⁰

La principal función es filtrar el plasma y eliminar sustancias de este filtrado según las necesidades del organismo. Son los riñones los principales órganos para eliminar productos de desecho del metabolismo que no son necesarios. Principalmente la urea proveniente del metabolismo de aminoácidos, creatinina proveniente del metabolismo de la creatinina muscular, el ácido úrico del metabolismo de los ácidos nucleicos, productos finales de la degradación de la hemoglobina como la bilirrubina. Así, mismo eliminan también sustancias tóxicas ingeridas o fabricadas por el cuerpo.¹¹

La formación de orina comienza en el glomérulo con la formación de un ultra filtrado del plasma. La tasa de filtración glomerular depende fundamentalmente de las fuerzas que impulsan la filtración (presión hidrostática en los capilares glomerulares) y las que

se oponen a esta (suma de la presión hidrostática en el espacio de Bowman y presión oncótica en los capilares glomerulares). Otros determinantes del filtrado glomerular son el flujo plasmático glomerular y la superficie total de los capilares glomerulares. La pared del capilar glomerular se adapta perfectamente a las cantidades tan elevadas de agua que la atraviesan, pero solo deja pasar las moléculas más pequeñas de los solutos.⁷

Insuficiencia Renal Aguda

Definición

La falla renal aguda o insuficiencia renal aguda (IRA) es un deterioro súbito de la función renal con elevación persistente del nitrógeno ureico y la creatinina en sangre, potencialmente reversible y que conlleva la alteración de la homeostasis de agua y electrolitos. Se caracteriza por un aumento del 50% sobre el nivel basal de creatinina sérica. También se define como una disminución del 50% en la depuración de creatinina o como una disminución aguda en la función renal que requiere diálisis.¹²

Clasificación

La insuficiencia renal se clasifica en; Prerenal, cuando se compromete la perfusión sanguínea del riñón; Renal o parenquimatosa, cuando existe lesión orgánica de las estructuras renales; Post-renal u obstructiva, cuando hay obstrucción de las vías urinarias a cualquier nivel. Esta clasificación se basa en el factor desencadenante, pero existe una más en relación al volumen urinario. De acuerdo a la clasificación según volumen urinario son; oligúrica, cuando existe diuresis menor de 500ml en 24 horas o 5-10 ml/min; No oligúrica cuando los volúmenes urinarios son mayores.¹²

Epidemiología

A nivel mundial se reportan alrededor de 200 casos de falla renal por millón de habitantes al año, siendo la necrosis tubular aguda con 45% la forma clínica más frecuente, seguida por la falla renal de tipo prerenal con 21%, la agudización de la falla renal crónica y la uropatía obstructiva con 13% y 10% respectivamente.

Al hablar de Epidemiología, para el año 2006 se identificaron 2,358 nuevos casos de Insuficiencia Renal Crónica y en las estadísticas de El Salvador aun se encuentra dentro de las primeras 10 causas de muerte hospitalaria, mostrando una leve disminución en su

frecuencia pasando de ser la quinta causa de muerte en el año 2000 a la sexta causa durante los años comprendidos entre el año 2003 y 2006.²

En el año 2003 se reportaron 453 muertes por esta patología, conformando el 5.76% de las muertes hospitalarias de ese año con un egreso hospitalario de 4,471 pacientes y 524 muertes por insuficiencia renal aguda no especificada.²

Se ha reportado una tasa de mortalidad de 7.89 para la insuficiencia renal aguda.

Causas de Insuficiencia Renal

Dentro de las causas prerenales está la disminución del volumen efectivo del líquido extracelular como ocurre por pérdidas de volumen, hemorragia, vómito, diarrea, quemaduras o uso de diuréticos. Con relación a la pérdida de volumen está la redistribución del líquido extracelular o lo que se conoce como “Tercer Espacio” en casos de peritonitis, pancreatitis, síndrome nefrótico, obstrucción intestinal o hepatopatías. Se consideran en casos de disminución del gasto cardiaco (shock cardiogénico), en vasodilatación periférica como ocurre en la sepsis, vasoconstricción renal y vasodilatación de la arteriola eferente.¹³

Con relación a las causas parenquimatosas a la cabeza se encuentra la necrosis tubular aguda isquémica por sepsis o persistencia de las causas prerenales antes mencionadas. Además puede estar ocasionada por nefritis tubulointersticial aguda, glomerulonefritis aguda, necrosis cortical u oclusión vascular por trombo o embolo bilateral de arterias renales, vasculitis, síndrome urémico y síndrome antifosfolípido, entre otras.^{1, 13}

Las causas de tipo obstructiva más comunes son la obstrucción uretral por hipertrofia prostática benigna, litiasis, entre otras. Se consideran también las de origen infeccioso como en la cistitis bacteriana y por último las fibrosis retroperitoneales asociadas con

aneurismas aórticos traumatismos, radiación o inducidas por fármacos como ergotamina y sulfamidas.¹³

Diagnóstico

El diagnóstico de la insuficiencia renal se basa en la elevación de nitrógeno ureico y la creatinina. El aumento de la creatinina es el parámetro de mayor confiabilidad. De acuerdo con la causa desencadenante, los pacientes pueden ser asintomáticos, presentar signos o síntomas de retención de líquidos o por el contrario de deshidratación.^{1,14}

Siempre es importante una buena anamnesis y examen físico para detectar los diferentes factores desencadenantes o factores de riesgo de cada paciente. Dentro de la investigación a realizar el diagnóstico se realiza por medio de pruebas de laboratorio.

El nitrógeno ureico, la creatinina y el cuadro hemático también suelen estar alterados en casos de pérdida sanguínea marcada. Los electrolitos como el sodio y el potasio son importantes para determinar la osmolaridad en casos de cetoacidosis diabética y estados hiperosmolares.^{1, 13,14}

Síndrome Isquemia-Reperusión

Se define como el proceso que sufre un órgano sometido temporalmente a la falta de flujo sanguíneo con posterior reperusión con sangre oxigenada.

Existen tres fases bien definidas:

1. Isquemia caliente
2. Isquemia fría
3. Reperusión

El resultado es una agresión tisular secundaria a la anoxia, a la deprivación de metabolitos y el acúmulo de sustancias de desecho del metabolismo que conducen a la muerte celular.¹⁵

La isquemia produce *per se* un daño celular que se acrecenta con la reperusión, lo que sostiene que la entrada de sangre oxigenada resulta más perjudicial para el órgano.

El síndrome de isquemia-reperusión es una secuencia compleja de sucesos trascendentales: a) la alteración metabólica a nivel celular que aparece durante el periodo de isquemia y b) la lesión producida por los radicales libres derivados del oxígeno y polimorfonucleares durante la reperusión. El daño severo a las membranas, entre ellas, la mitocondrial, alteraciones morfológicas, funcionales como el desprendimiento de los complejos de la cadena respiratoria, quedando paralizadas todas las funciones celulares que requieran energía, lo que estimula la glicólisis anaerobia formándose ácido láctico e hidrogeniones dando lugar a la *acidosis intracelular*. Esta provoca la activación de las enzimas de los lisosomas conduciendo a la autólisis y muerte celular.¹⁶

La membrana plasmática se altera al inhibirse la actividad de la bomba $\text{Na}^+ - \text{K}^+$ ATPasa (transporta el Na^+ hacia el exterior celular y el K^+ hacia el interior). Con la inhibición de

esta bomba se produce la alteración de los iones sodio, potasio y calcio perturbando el potencial de membrana que queda abolido. Debido a la elevada concentración de cloro extracelular y la presencia de elevada concentración proteica intracelular el cloro penetra dentro de la célula con un catión (sodio y calcio) arrastrando agua y el potasio sale para mantener el equilibrio iónico con el espacio intersticial.^{15, 16}

Este proceso conduce al edema celular y activación de enzimas por el calcio como las fosfolipasas que producirán la lesión de las diferentes membranas: citoplasmática, mitocondrial, lisosomal; proteasas, ATPasas (depleción de ATP) y endonucleasas (fragmentación de cromatina) conllevando a la muerte por citólisis.¹⁷

Mecanismo molecular

En 1981 Granger, Rutili y McCord fueron los primeros en proponer este mecanismo para explicar la producción de lesiones en el síndrome de isquemia-reperfusión. Bajo tensiones normales de oxígeno (O_2), éste es reducido a agua (H_2O). La cadena de transporte de electrones mitocondrial reduce el 95% del O_2 por uniones tetravalentes a H_2O sin generar ningún radical libre de oxígeno. A la vez, el 5 % restante de oxígeno se destina a la generación de radicales libres de oxígeno necesarios para el funcionamiento celular. Cuando el oxígeno toma un electrón, se produce el anión superóxido (O_2^-), que suele estar equilibrado por la presencia de diversas formas protonadas. Durante la isquemia, la acidosis que se produce favorece la producción de este anión capaz de oxidar los ácidos grasos libres de la membrana celular. Para evitarlo, la célula pone en marcha enzimas como la superóxido dismutasa reduciendo éste a H_2O_2 .¹⁸

La privación de oxígeno y nutrientes *in vivo* produce a nivel celular una serie de alteraciones en el metabolismo y la estructura celulares que comienzan con una importante reducción de los niveles de ATP, generan estrés oxidativo y provocan

alteraciones en los niveles intracelulares de calcio. Todo ello a su vez conlleva alteraciones en el citoesqueleto y modificaciones en proteínas de uniones intercelulares y la membrana basal, entre otras durante el periodo de isquemia se produce consumo de ATP por parte de las células para mantener la homeostasis.⁴

La isquemia produce una situación de acidosis con generación de estrés oxidativo y alteraciones en la cadena respiratoria mitocondrial, comprometiéndose así la generación de ATP. El ATP sufre una rápida degradación a ADP y AMP; este AMP es rápidamente metabolizado a nucleótidos de adenina e hipoxantina.^{16,19}

Durante la hipoxia, por la falta de oxígeno, un gran número de enzimas mitocondriales como la citocromo oxidasa y la manganosuperóxido dismutasa, entre otras, disminuyen su actividad. Estas enzimas son captadoras de aniones por lo que su descenso provoca el aumento intracelular en radicales libres de oxígeno. El exceso de radicales libres de oxígeno provoca daño celular por incrementar la peroxidación de lípidos, entre otros mecanismos¹⁹. Una fuente adicional de radicales libres de oxígeno (RLO) dentro de la célula, es la actividad de enzimas como la Xantina deshidrogenasa-oxidasa, la ferrihemoglobina y la nicotiamida-adenina dinucleótido fosfato (NADPH) oxidasa. Estas enzimas aumentan su actividad oxidasa durante la isquemia-reperfusión actuando como donadoras de electrones y principales fuentes de producción intracelular de RLO, fundamentalmente O_2^- y H_2O_2 ²⁰. La isquemia y la perfusión alteran esta homeostasis: con la isquemia las defensas antioxidantes se ven dañadas, se acumula el H_2O_2 y se genera un exceso del radical hidroxilo que es también destructor.²¹

Fase de Reperfusión

Alteraciones celulares

Reentrada masiva de oxígeno al tejido: el flujo sanguíneo se reinstaura llegando de nuevo oxígeno de forma importante a las células. El exceso de Ca_2^+ citoplasmático

activa la enzima proteasa que activa el paso de Xantina-D (deshidrogenasa) a Xantina-O (oxigenasa) en presencia de NADPH. La xantinaoxidasa es la mayor fuente biológica de producción de superóxidos en tejidos postisquémicos, siendo la primera fuente documentada de producción de dicho radical. En los tejidos normóxicos la forma sintetizada es la xantinadeshidrogenasa. La xantinadeshidrogenasa no puede transferir electrones al oxígeno molecular para formar peróxido de hidrógeno o superóxido, pero puede reducir el NAD^+ (nicotinamida adeninnucleotido).⁵

En condiciones de baja concentración de oxígeno como ocurre en la fase de isquemia sucede la transformación de Xantino-Deshidrogenasa en Xantino-Oxidasa y ésta utiliza el oxígeno molecular en lugar del NAD^+ produciendo superóxido y peróxido de hidrógeno:



Sintetizándose los radicales libres de oxígeno.^{5, 15, 22, 23}

Alteraciones del Endotelio Vascular

El endotelio, se creía previamente, que sólo era una barrera permeable a los iones, moléculas orgánicas y también una zona de efectos metabólicos. El endotelio vascular es además un órgano regulador del tono vascular sintetizando y liberando sustancias vasoactivas, jugando un papel crítico en la regulación hemodinámica de la microcirculación.^{15, 19}

Para mantener la permeabilidad de los vasos sanguíneos y la fluidez de la sangre, las células endoteliales sintetizan algunas sustancias activas, incluyendo grandes moléculas como fibronectina y sulfato de heparina, interleukina-1, activador de plasminógeno

tisular, varios factores de crecimiento y pequeñas moléculas como prostaciclina, óxido nítrico, factor activador de las plaquetas y endotelina-1. La producción de estas sustancias es modulada por cambios en la concentración de mensajeros intracelulares como el AMPc, GMPc, Ca^{2+} y por interacciones entre el endotelio y sus células, plaquetas o constituyentes del plasma.^{13, 15}

Elementos involucrados en la alteración del endotelio vascular

Endotelina

En 1988, Yagagisawa y col aislaron un péptido de 20 aminoácidos llamado *endotelina*, el cual se ha mostrado como el más potente vasoconstrictor endógeno *in vivo* e *in vitro* conocido hasta ahora. Es 10 veces más potente que la Angiotensina-II, vasopresina y neuropéptido Y.²⁴

Las diversas “acciones vasculares” de las endotelinas incluyen: vasoconstricción potente, aumento de las resistencias vasculares, efectos presores, acciones inotrópicas y cronotópicas positivas, regulan el tono de los vasos linfáticos, producen hemoconcentración, aumentan la permeabilidad vascular produciendo edema intersticial al inducir la liberación de TXA_2 .²⁴

Entre las “acciones no vasculares” destacan:

- Promueven la mitogénesis de células musculares lisas vasculares, fibroblastos, melanocitos, capilares cerebrales, células estrelladas hepáticas.
- Son potentes constrictores de la vejiga de mamíferos.
- Inductores de contracciones uterinas.
- Estimulan la producción de testosterona por las células de Leydig.
- Implicadas en la glicogenólisis hepática.¹⁵

En el riñón las endotelinas juegan un papel importante en la regulación de la función renal. Prueba de ello es que se han identificado mRNA para receptores de endotelina ET-1, ET-2 y ET-3 en la médula, corteza y vasos de riñones humanos.¹⁵

Péptidos activos de ET se ha localizado principalmente en las células endoteliales de los vasos sanguíneos intrarrenales, incluyendo las arterias arcuatas e interlobares, arteriolas, venas arcuatas vecinas y células endoteliales de los glomérulos. El riñón es rico en receptores para las endotelinas. El receptor ETA está localizado principalmente en los vasos renales mientras que el ETB predomina en los túbulos colectores; también está presente en las células mesangiales, glomerulares y el resto del epitelio tubular.^{15,24}

El riñón es cerca de 10 veces más sensible que otras regiones vasculares a los efectos constrictores de la ET-1. La ET-1 puede aumentar o inhibir la liberación de renina, participar en la regulación de la excreción de sodio y agua y liberar aldosterona actuando sobre los túbulos colectores. A nivel renal, la ET-1 puede estimular la proliferación de células mesangiales y su contracción y también puede aumentar las resistencias vasculares conllevando una disminución del flujo sanguíneo renal, de la filtración glomerular y del volumen urinario.

Están implicadas en los mecanismos de la HTA: primero producen vasodilatación transitoria con la consecuente hipotensión ya que pueden inducir la liberación de óxido nítrico y prostaciclina (De Nucci y col. 1988 y Hermán y col. 1989), para finalmente producir una sustancial vasoconstricción: HTA por liberación de TxA₂ (De Nucci y col. 1988) y/o aumento del Ca²⁺ (Yanagisawa y col. 1988). Por otra parte, Sirosis contradice que los productos de la ciclooxigenasa estén implicados en el efecto de la ET-1 sobre la

tensión arterial y jugarían un papel importante en el fallo renal agudo inducido por la isquemia-reperfusión.¹⁵

Whilhelm y col²⁵ demuestran, al observar en su modelo experimental en rata, que es sobre todo tras la isquemia, cuando se activa el preproET-1 mRNA y aumenta la actividad ET-1 en los capilares peritubulares renales. También, se han observado aumentos del nivel de ET-1 tras la isquemia reperfusion en cerdos trasplantados de hígado y en ratas al *clampar* el pedículo renal y que estos aumentos estaban correlacionados con elevaciones en la creatinina y el BUN. En un estudio de Kon et col. Se observó que, al inyectar un bolus de ET-1 de forma selectiva en la circulación renal o provocar un aumento de ET-1 (tras inducir isquemia-reperfusión en ratas al *clampar* el pedículo vascular) se producía un descenso del flujo plasmático renal y de la filtración glomerular secundario al aumento de las resistencias vasculares glomerulares. Espinosa y col. demuestran en su trabajo experimental en conejos, que también la ET-1, tras isquemia-reperfusión, contribuye al acúmulo de polimorfonucleares (PMN) al estimular la expresión de las moléculas de adhesión de superficie CD18 (integrinas) de estas células.

Oxido Nítrico (NO)

En 1980 Furchgott y Zawdzki usando tiras de aorta en un baño de órganos descubrieron que el endotelio de los vasos era esencial para el efecto vasodilatador de la acetil-colina. Evidenciaron que este efecto era debido a una sustancia a la que denominaron factor relajante derivado del endotelio (EDRF).¹⁷

En 1987 Palmer y Moncada demostraron que este factor era el Óxido Nítrico (NO). El óxido nítrico es un gas incoloro, escasamente soluble en agua y fácilmente oxidable. La molécula de NO tiene un peso molecular de 30 Daltons. Contiene un electrón no apareado en su capa exterior y debido a ello posee las características de un radical, lo cual explica su elevada reactividad y su tendencia a la unión con hemoproteínas reducidas. El óxido nítrico es un radical libre debido a su electrón no apareado, es inestable en presencia de oxígeno y agua, se oxida a nitrito y nitrato que son sus metabolitos estables. Su vida media es de 3-6 segundos, siendo el nitrito NO_2^- el producto más abundante de su catabolismo.²⁶

El NO actúa activando la forma soluble de la guanilciclase e incrementa el GMPc a nivel de la célula del músculo liso vascular. Para ello se requiere la reducción del hierro (Fe^{++} del hemo). El GMPc activa una proteincinasa que fosforila las cadenas de la miosina produciéndose relajación del músculo liso vascular. El sustrato para la síntesis del NO es la L-arginina. El enzima que cataliza la formación del NO a partir de L-arginina es la oxidonítrico sintasa (NOS). La NOS cataliza la oxidación del átomo de nitrógeno de uno de los terminales guanidino de la L-arginina generando citrulina y eliminando NO y anión superóxido. Todas las isoformas enzimáticas requieren L-arginina, oxígeno, NADPH como sustratos y flavinadeninnucleótido (FADH_2),

flavinmononucleótido, grupo hemo y tetrahidrobiopterina (BH₄) como cofactores. La familia de isoformas de la NOS se divide principalmente en isoforma constitutiva (cNOS) e isoforma inducible (iNOS). La cNOS requiere el cofactor Ca²⁺ para unirse a la calmodulina y así activarse (Ca²⁺ dependiente).^{15, 17}

Se conocen dos subtipos de ésta: neuronal-NOS I/ nNOS y endotelial-NOS III/ eNOS. Recientemente se ha aislado una cuarta isoforma a partir de hepatocitos humanos: iNOS hepática. La diferencia en la estructura bioquímica de estas enzimas radica en el terminal NH₂, mientras que el terminal COOH confiere la similitud entre ellas y la citocromo P450 reductasa.

El NO presenta actividades biológicas. Es un potente vasodilatador, inhibe la adherencia leucocitaria y la interacción de las plaquetas con el endotelio vascular, inhibe la mitogénesis y la proliferación de las células musculares lisas vasculares.¹⁷

En el riñón el NO juega un papel muy importante en la regulación de las funciones hemodinámicas y excretoras. Es un regulador del tono vascular glomerular y del coeficiente de ultrafiltración de los capilares glomerulares. También juega un papel en la regulación de la reabsorción tubular de sodio y agua.

La disminución de su síntesis provocaría una disminución en el flujo medular que llevaría a un mayor gradiente osmótico en la médula y a un aumento en la reabsorción de sodio y agua. Al tener un electrón no apareado en su estructura química, puede aceptar electrones y de ese modo ser reductor del anión superóxido. Incluso puede llegar a inhibir la producción del mismo por los neutrófilos. Pero, por otra parte, puede tener efecto citotóxico directo y ha sido implicado en el daño de los tejidos. Los macrófagos

son una fuente importante de producción de NO a partir de iNOS ejerciendo acción patógena.

Numerosos trabajos han intentado esclarecer el papel del NO en el daño por isquemia-reperusión. Unos apoyan la hipótesis que durante este fenómeno se produce un aumento de actividad de cNOS; otros de iNOS y otros de ambos.

La mayoría concluye afirmando el efecto protector del NO, manteniendo del flujo sanguíneo renal durante la recuperación del daño isquémico. Al parecer, según Cristol (1993), sería la isoenzima eNOS la que predominaría durante la I/R sin llegar a detectarse iNOS. No obstante, Noiri (1996) opina lo contrario. Sin embargo, otros apoyan el efecto citotóxico del NO. Weight (1998) sugiere que la temprana liberación de NO durante la isquemia caliente-reperusión es citotóxica pero que en general ejercería un papel citoprotector.¹⁷

Neutrófilos

Finalmente el proceso del daño post-reperusión se ve agravado por la participación que en ella tienen los neutrófilos por una parte y la inducción en la producción de óxido nítrico NO por la otra. La adhesión endotelio-neutrófilo que sigue a la reperusión está fuertemente implicada. El neutrófilo tiene 3 receptores de superficies identificados como CD 11a, CD11b y CD 11c.^{15, 19}

RADICALES LIBRES DE OXÍGENO

Una molécula normal consiste en un par de electrones opuestos en giro (spin) y circulando en una misma órbita. El radical libre (RL) contiene un número impar de electrones. Si dos RL reaccionan entre sí ambos son eliminados, pero si reacciona con una molécula normal se produce un nuevo radical.^{15, 19, 21}

Los radicales libres de oxígeno son metabolitos tóxicos que presentan estados intermedios de reducción electroquímica del oxígeno al agua. Por ello participan en múltiples reacciones, pueden servir como oxidantes y como reductores.

SUPERÓXIDO	$O_2 + e^-$	O_2^-
PERÓXIDO DE HIDROGENO	$O_2^- + O_2^-$	$H_2O_2 + O_2$
RADICAL HIDRÓXILO	H_2O	$H^+ + OH^-$
OXÍGENO SINGULAR	$O_2^+ + H_2O_2$	$O_2 + OH^- + OH^-$

Los RLO se producen durante la fase de reperfusión por lo que la entrada de oxígeno en el tejido es más nociva que la producida por la propia isquemia. El organismo normalmente elimina el 95% del oxígeno transformándolo en agua en una reacción catalizada por la citocromo oxidasa mitocondrial. No obstante un 5% del oxígeno se elimina a través de la denominada reducción univalente del oxígeno, es decir el oxígeno pierde un electrón cada vez dando lugar a los denominados radicales libres de oxígeno, sustancias con un número impar de electrones.¹⁷

Toxicidad de Radicales Libres

La toxicidad del superóxido es el resultado del ataque directo o indirecto a nivel molecular por parte del superóxido o bien por radicales generados secundariamente.¹⁵

Toxicidad Directa

- Mediante modificaciones de los ácidos nucleicos y rupturas del ADN.
- Mediante despolimeración de mucopolisacáridos y del ácido hialurónico, así como degradación del colágeno.
- Mediante inactivaciones enzimáticas, en particular por oxidación de grupos sulfhidrilo, lo cual puede igualmente alterar la integridad de las membranas.

Toxicidad Indirecta

Se manifiesta mediante el proceso de lipoperoxidación, que constituye la oxidación de los ácidos grasos poliinsaturados contenidos en los fosfolípidos de las membranas celulares. De ello resulta una reacción en cadena con formación de radicales libres intermedios que son altamente reactivos y, por tanto, extremadamente tóxicos. Esta reacción en cadena finaliza con la formación de aldehidos o por la unión de dos radicales lipídicos o bien por la formación de un compuesto cíclico. Los productos más conocidos son los eicosanoides, ácidos grasos de 20 átomos de carbono, que pueden ser de dos tipos: prostanoides (prostaglandinas, tromboxano, prostaciclina) y leucotrienos, que derivan del ácido araquidónico por las vías de la ciclooxigenasa o de la lipooxigenasa. El ácido araquidónico se sintetiza gracias a la acción de la fosfolipasa A2 sobre los fosfolípidos de la membrana celular.

La riqueza en ácidos grasos insaturados de las membranas celulares e intracelulares sugiere la gravedad de las lesiones de membrana que pueden llevar a la apoptosis.¹⁷

Efectos de los Radicales Libres de Oxígeno (RLO) en Patología Médica

Existen diversas circunstancias clínicas en las que los RLO han sido implicados, bien directa, bien indirectamente, en su patogenia.

En fisiopatología renal se han implicado en procesos como isquemia/reperfusión, eclampsia, distintos modelos de glomerulonefritis y en alteraciones de la hemodinamia glomerular. El anión superóxido, uno de los principales RLO, puede inactivar el óxido nítrico causando disfunción endotelial e hipertensión arterial, una de las principales causas de insuficiencia renal. En condiciones de riesgo arteriosclerótico como hipercolesterolemia, diabetes, tabaquismo y angioplastia existen también evidencias de un mayor estrés oxidativo.²⁷

La hipótesis oxidativa de la arteriosclerosis es cada vez más sólida y el estrés oxidativo se correlaciona con la aparición y la severidad de las lesiones. Las LDL oxidadas inducen la expresión de moléculas de adhesión endotelial, intervienen en la formación de células espumosas, alteran la membrana endotelial y estimulan la hipertrofia y proliferación de células musculares lisas de la vasculatura. En el riñón, estas lesiones pueden provocar isquemia glomerular e hiperfiltración compensadora en las nefronas supervivientes, con el consiguiente desarrollo de glomerulosclerosis, proteinuria e insuficiencia renal. Los RLO también se producen en las células mesangiales en respuesta a distintos agonistas tróficos y vasomotores como Angiotensina II, y su síntesis es esencial para la hipertrofia y proliferación de dichas células. Del mismo

modo, los RLO son unos potentes inductores de TGF- β 1, factor de importancia crucial en el desarrollo y progresión de la lesión renal.

En la insuficiencia renal crónica y, en especial, en los pacientes en diálisis, aumentan los productos de peroxidación lipídica y disminuyen las defensas antioxidantes como superóxido dismutasa, glutatión, catalasa y tocoferol. La microalbuminuria en pacientes con hipertensión arterial esencial, marcador clínico principal de la nefroangiosclerosis, se correlaciona directamente con los productos de la oxidación en plasma e inversamente con la actividad antioxidante sérica²⁸. Las LDL oxidadas inducen experimentalmente lesiones análogas a la nefroangiosclerosis (hipertrofia y proliferación tanto de células musculares lisas de la vasculatura como de células mesangiales y expansión de la matriz extracelular), y el tratamiento antioxidante previene dichas lesiones.

Todavía está por demostrar que el tratamiento antioxidante disminuya las lesiones de nefroangiosclerosis en clínica humana pero ya existen evidencias disponibles en cuanto a su bondad en otros territorios vasculares, como por ejemplo en la restenosis coronaria al usar terapia antioxidante.²⁹

Dimetilsulfóxido

Historia de DMSO

El Dimetilsulfóxido (DMSO) es un producto utilizado en la industria de la madera, como un solvente desde 1953. Además, es uno de los productos farmacéuticos más estudiados pero menos comprendido de este tiempo en los Estados Unidos. La investigación para usos médicos comenzó en 1961 con el Dr. Stanley Jacobs . Este era utilizado para preservar los órganos antes de ser colocados en el nuevo paciente. El Dr. Jacobs observo que el agente penetraba rápidamente la piel y llegaba a capas profundas sin producir mayor daño alguno. Al observar esto, decidió iniciar su investigación.³⁰

La noticia de este nuevo agente farmacéutico se difundió gracias a los estudios del Dr. Jacobs lo cual ocasiono una revolución mediática y con la población en general. Esto ocasiono problemas para la investigación de los efectos del mismo, ya que por su disponibilidad industrial era fácil para el público adquirir esta nueva sustancia.

DMSO y FDA

Al inicio de la investigación de DMSO, seis fueron las compañías farmacéuticas que se embarcaron en la investigación del mismo. Dentro de estos estudios en Noviembre de 1965 se reporto una muerte relacionada con el uso del DMSO, fue una mujer en el país de Irlanda, la cual murió de una reacción alérgica después de administrado el sustancia, pero que también estaba consumiendo otros sustancias. La causa de la reacción alérgica no fue identificada, pero la prensa rápidamente señalo al DMSO como la causa inminente. Posteriormente a este reporte la FDA decidió clausurar todos los ensayos clínicos relacionados con el DMSO, al vincularlo con la muerte de una persona.³⁰

Después de 20 años de estudios con el DMSO, no se han reportado otras muertes relacionadas con su uso, pero aun con este dato la FDA ha rechazado 7 estudios y solo existe una aplicación clínica, la cual fue aprobada en 1978 para el tratamiento de la cistitis intersticial.³⁰

DMSO, Analgesia y Absorción

Dentro de las primeras características que captó la atención del Dr. Jacob fue la facilidad de la sustancia para penetrar las membranas.³¹ La solución utilizada en la mayoría de estudios es una concentración del 90%. La efectividad máxima de la sustancia está entre los rangos de 70-90% de concentración. Esto solo es menor cuando se utiliza en la vejiga ya que en concentración del 15% logra penetrar el epitelio.³² Además el DMSO tiene usos como medio de transporte para otros medicamentos, entre los comprobados está la morfina, la penicilina, esteroides y cortisona. Los efectos de transporte dependen de las características de la molécula como el peso y la forma.

Dentro de los usos del DMSO como analgésico tópico, se utilizan soluciones de 70% de DMSO y 30% de agua. Estudios sugieren que el DMSO elimina el dolor al bloquear las fibras nerviosas periféricas.³³ Se ha comprobado un efecto analgésico en quemaduras, heridas y torceduras de hasta 6 horas.³⁴ Se ha utilizado en integrantes de equipos deportivos y en juegos olímpicos, y se ha comprobado que al detener la administración la sintomatología vuelve.

DMSO e Inflamación

El DMSO es capaz de reducir la inflamación por varios métodos. Es considerado un antioxidante y recolector de radicales libres en el sitio de lesión. Además es capaz de estabilizar membranas y detiene o disminuye la pérdida de sustancia de las células con lesión. Esto fue comprobado en un estudio en la *Cleveland Clinic* en 1978 donde se utilizó para el alivio del dolor en pacientes con desordenes inflamatorios genitourinarios y se comprobó que produjo alivio del dolor en la mayoría de pacientes.³⁵ Posteriormente se hizo la recomendación de ser utilizado en cualquier tipo de inflamación exceptuando la ocasionada por infección o tumores. Se recalca su uso en pacientes con dolor como paliativo, no está indicado como medicamento curativo de cualquier condición en la que sea utilizado.

DMSO y Trauma en Sistema Nervioso Central

En los años de 1971 el Dr. De la Torre en la Universidad de Chicago comenzó a trabajar con el DMSO en lesiones al sistema nervioso central. Sus estudios en animales demostraron que la sustancia disminuye la presión intracraneal más rápidamente y de manera más significativa que otros medicamentos utilizados comúnmente. Además el DMSO logró estabilizar la presión arterial sistémica, mejoró la respiración, aumento en 5 veces la diuresis y aumento el flujo sanguíneo a las áreas medulares con lesión.^{36,37,38} Posterior a este estudio se utilizó el DMSO en pacientes con Trauma Craneoencefálico Severo en los cuales la presión intracraneal no cedía a pesar de los tratamientos convencionales con manitol, esteroides o barbitúricos.

DMSO y Farmacología

Se han descrito una gran variedad de acciones farmacológicas del DMSO por medio de ensayos clínicos como el transporte de membrana, los efectos sobre tejido conectivo,

efectos anti-inflamatorios, analgesia, bacteriostasis, diuresis, vasodilatación, antagonismo de la agregación plaquetaria, entre otros.³⁰

Con respecto al transporte por membrana se observó la presencia del DMSO por medio de radioactividad en la sangre 10 minutos posteriores a la aplicación del mismo por vía cutánea. En el caso de los humanos se observó por este mismo caso en 5 minutos. Una hora posterior a la aplicación por la misma vía se podía detectar DMSO en los huesos. Además se midió el nivel de DMSO por medio de radioactividad en los diferentes órganos de ratas. En orden decreciente se encontró primero el bazo, estomago, pulmón, humor vítreo, timo, cerebro, riñón, colon, corazón, músculo esquelético, piel, hígado, aorta, glándulas suprarrenales y cartílago.³⁹

Se investigó el efecto del DMSO en la vasodilatación con un modelo de ratas en el cual se utilizó para aumentar el flujo en un injerto de tejido en la espalda de estos animales. Fue sugerido por los investigadores que el primer efecto del DMSO en el injerto sería la liberación de histamina. En otro estudio se identificó el aumento de la supervivencia del injerto pero se desconoce la causa del mismo pero se cree no tiene relación con el aumento de la perfusión al tejido.⁴⁰

Existe otro efecto importante y está relacionado con al antagonismo a la agregación plaquetaria. Existen dos estudios en los cuales se demostró que una solución de DMSO al 5% disminuye la agregación plaquetaria *in Vitro*.⁴¹ El DMSO es capaz de antagonizar muchas sustancias dentro del proceso de isquemia, en su mayoría las liberadas por las plaquetas, las cuales en ocasiones inducen la vasoconstricción, vasoespasmo u obstrucción del lumen de los vasos. En estudios se ha demostrado la capacidad del

DMSO de inhibir el ADP y la agregación plaquetaria inducida por la trombina.⁴² Se presume logra este efecto al aumentar los niveles de cAMP, por medio de la inhibición de la enzima degradadora de este componente, la fosfodiesterasa.

Además se ha encontrado otro efecto del DMSO sobre otras sustancias vasoactivas secretadas por las plaquetas durante la lesión o isquemia. Dentro de estas esta el calcio de las células o de las plaquetas específicamente y su efecto sobre la pared muscular de las arteriolas.^{43 44 45 46}

Se conoce muy poco sobre el DMSO y su efecto sobre las prostaglandinas y tromboxanos. Estudios han reportado que el DMSO aumenta la síntesis de PGE.⁴⁷ La PGE1 es capaz de reducir la agregación plaquetaria al aumentar el cAMP y además inhibe la liberación de noradrenalina mediada por el calcio en las terminaciones nerviosas, un efecto que puede antagonizar la vasoconstricción y reducir el flujo sanguíneo cerebral.⁴⁸

Además se ha reportado que el DMSO puede bloquear los receptores de PFG2 y reduce la síntesis de PFE₂.⁴⁹ Estos compuestos son capaces de ocasionar una agregación plaquetaria moderada y la PFG2 además induce la vasoconstricción.⁵⁰ Los efectos del DMSO sobre la síntesis del tromboxano son aun desconocidos.

Efectos Adversos de DMSO

Los primeros estudios de DMSO contemplados por la FDA en años anteriores fueron interrumpidos en 1965 debido a reportes de alteraciones en el cristalino en algunos mamíferos. Estas alteraciones estaban relacionadas con cambios en la refracción de los

mismos y no con opacidades. En estos animales se encontraban 2 áreas con diferente refracción. Los unidades de experimentacion en los cuales se presentaron estos cambios recibieron dosis de 5g/kg al día. Este efecto adverso se presentó en perros, conejos y cerdos.⁴⁹

Compañías farmacéuticas involucradas en los estudios al momento no habían reportado casos como los mencionados en mamíferos. Debido a que los estudios ya estaban en marcha, parecía infructífero hacer una nueva evaluación de los pacientes para determinar estos problemas preexistentes, ya que algunos de ellos eran adultos mayores y al momento del reclutamiento no fue tomado en cuenta un examen oftalmológico. Se decidió revisar a pacientes que ya estuvieran en tratamiento prolongado y a dosis elevadas para ser evaluados. Se examinaron en esa ocasión a 32 pacientes con dosis de 30g/día de DMSO por 3 – 19 meses en los cuales no se encontró ninguna anormalidad.⁴⁹

Las compañías farmacéuticas continuaron recolectando información de sus diferentes estudios con alrededor de 20,000 casos en los que no se encontró anormalidades. Otros estudios en Alemania y Estados Unidos se efectuaron con monos en los cuales tampoco se encontró anormalidades elucidando que estos efectos eran específicos para algunas especies.⁴⁹

En 1967 se restableció el estudio del DMSO específicamente para evaluar los efectos adversos en los humanos (n=65). En este estudio se evaluarían parámetros específicos, dentro de ellos los efectos oftalmológicos, pulmonares, química sanguíneas y a nivel de medula ósea. La primera fase consistía en la administración tópica de DMSO al 80% a dosis de 1g/kg al día. En la química sanguínea se reportaron elevaciones aisladas de

nitrógeno ureico y transaminasas pero ninguna sobre valores normales. El examen oftalmológico no reveló ninguna anomalía al igual que un nuevo examen físico completo. La totalidad de estos pacientes presentó eosinofilia la cual es normal al considerar la reacción como histamina del DMSO a nivel local. Los efectos generalizados fueron sedación (52%), cefalea (42%), náuseas (32%) y mareos (18%).⁵¹

El estudio continuó con los mismos criterios de selección de pacientes pero en esta ocasión el periodo de uso del DMSO se aumentó a 90 días, con la misma concentración de la sustancia al igual que la dosis. En este caso los pacientes fueron evaluados con los mismos parámetros. Se encontraron anomalías en la química sanguínea únicamente con las transaminasas las cuales retornaron a sus valores normales dentro del periodo de aplicación de la sustancia. No se reportaron anomalías oftalmológicas o pulmonares. Los efectos más comunes siempre fueron las reacciones cutáneas y halitosis (con olor similar al ajo) relacionada con el uso prolongado de DMSO. Dentro de los efectos adversos se mencionan las cefaleas, mareos, náuseas y reacciones cutáneas.⁵¹

Farmacocinética del Dimetilsulfóxido

El Dimetilsulfoxido (DMSO) posee una vida media en humanos es de 12 a 15 horas. El DMSO es metabolizado en los humanos por la oxidación a Dimetilsulfona, DMSO_2 o por la reducción a Dimetilsulfuro, DMS. DMSO y DMSO_2 son excretados en la orina y heces. DMS es eliminado por las vías aéreas y la piel con un olor característico a “ajo” u “ostras”. La excreción en humanos cuando el DMSO se administra por vía oral se completa en 120 horas, con la excreción urinaria como método de eliminación primario. El metabolito DMSO_2 puede persistir en los humanos hasta por 2 semanas. Se ha demostrado que la tasa de depuración renal es similar en la administración crónica como en las administraciones individuales sin importar la concentración o dosis. No se ha demostrado acumulación residual del DMSO en humanos o animales por periodos prolongados de administración sin importar la ruta o dosis administrada.⁵²

HISTOPATOLOGÍA DE LA ISQUEMIA RENAL AGUDA

La histopatología renal varía de acuerdo a la severidad y evolución de la lesión del riñón. Los cambios pueden darse tempranamente y se presentan como alteraciones mínimas a edema celular severo, hasta necrosis celular con denudación de la membrana basal.⁵³ El daño isquémico es más notorio en los segmentos S₃ de los túbulos proximales y de los segmentos medulares de la porción gruesa del asa de Henle. Estos segmentos tubulares particularmente sensibles a la isquemia debido a las altas tasas de transporte de solutos dependiente de ATP, y a su ubicación en la medula externa, donde las presiones parciales de oxígeno son bajas aun en condiciones basales. La isquemia celular resulta en depleción del ATP, inhibición del transporte activo de sodio, disrupción del citoesqueleto, pérdida de la polaridad celular, adhesión entre células y entre la célula y la matriz, y formación de radicales libres de oxígeno.¹³

A medida que la lesión renal progresa se pueden observar cambios de regeneración de los túbulos. Los indicadores histológicos son: proliferación celular, tal como mitosis, núcleos hipercromáticos, y una relación alta núcleo-citoplasma.

Los túbulos lesionados se encuentran separados por un intersticio edematoso. Puede observarse un leve infiltrado inflamatorio compuesto por linfocitos, macrófagos y neutrófilos, en raras ocasiones pueden observarse eosinófilos.

La muerte celular que se da durante el evento de isquemia-reperfusión ocurre a través de apoptosis o necrosis coagulativa, lo cual se ha documentado en modelos animales y en la práctica clínica de la enfermedad renal. Los cambios que se pueden observar son condensación del núcleo y citoplasma. Los cuerpos apoptóticos, que se representan como fragmentos nucleares unidos por membrana, pueden observarse en células tubulares adyacentes, ya que han fagocitado los restos celulares. La necrosis coagulativa

se caracteriza por citoplasma eosinófilo y picnosis, con eventual desaparición del núcleo.⁵³ (Ver Imagen 1)

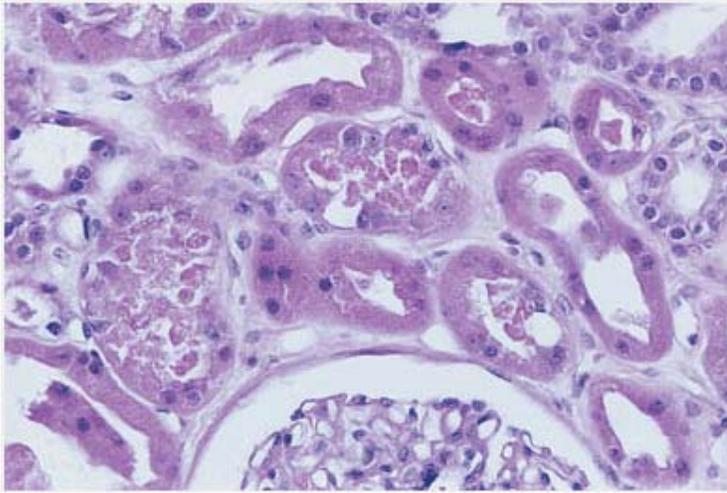


Imagen 1 Necrosis coagulativa focal de células epiteliales focales, con detritos en lumen tubular.

Fuente: Hepinstall's Pathology of the Kidney, 6th Edition, capítulo 24, pág. 1154.

Las pediculaciones apicales pueden ser el único hallazgo que se puede observar en las formas leves, en cambio en las formas más severas también se observa necrosis focal con ruptura de la membrana basal tubular.⁵⁴

La inflamación intersticial se debe a una respuesta a la lesión tubular, habitualmente el infiltrado es mononuclear y focalizado, ocasionalmente se asocia a edema intersticial, el cual puede ser severo.⁵³ (ver imagen 2).

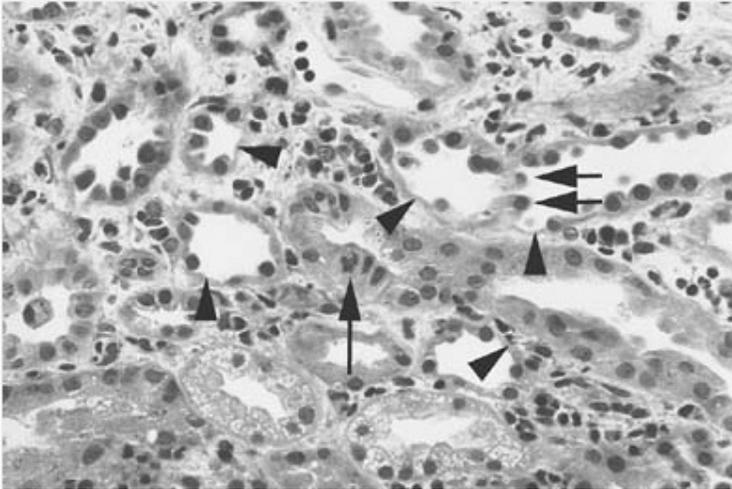


Imagen 2. Áreas de pérdida de células tubulares aisladas en un riñón con lesión isquémica. Las células lesionadas se desprenden, dejando áreas tubulares con membrana basal cubiertas con una fina capa de citoplasma de células adyacentes (puntas de flechas). Algunas células desprendidas pueden observarse en el lumen tubular (flechas cortas). Una célula mitótica se puede observar en una célula tubular (flecha larga). Además se observa edema intersticial y células inflamatorias que se observan en los alrededores de los capilares.

Fuente: Hepinstall's Pathology of the Kidney, 6th Edition, capítulo 24, pág. 1152.

Un hallazgo particularmente interesante en el caso de falla renal aguda es la acumulación de células nucleadas en la vasa recta de la medula externa. Es un hallazgo común y que en algunas ocasiones es la única clave histológica para diagnosticar isquemia renal transitoria.⁵³

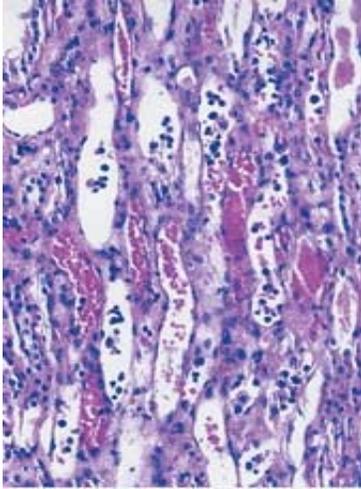


Imagen 3. Congestión de eritrocitos y células nucleadas en vasa recta dilatada de la medula externa en un riñón con lesión isquémica.

Fuente: Hepinstall's Pathology of the Kidney, 6th Edition, capítulo 24, pág. 1156.

La naturaleza de las células cambia de acuerdo a la progresión de la Isquemia renal transitoria en sus tres diferentes fases.

Los linfocitos predominan en las primeras 24 a 48 horas, posteriormente se observan células inmaduras de la serie mieloide y eventualmente por células rojas nucleadas y precursores de células rojas. La acumulación de células nucleadas de mayor tamaño es un reflejo del aumento hemodinámica que ocurre en la isquemia renal transitoria, con un aumento del flujo sanguíneo de los glomérulos superficiales y de la corteza medial hasta el yuxtaglomerular, lo que resulta en un incremento relativo del flujo a la población de nefronas, lo cual hace que aumente la vasa recta.⁵³

METODOLOGÍA

Tipo de estudio

Estudio de tipo experimental en el cual se utilizó DMSO como agente antioxidante.

Unidades Experimentales

Se utilizaron conejos machos raza Nueva Zelanda con peso entre 2.5 ± 1 Kg. El bienestar animal se realizó bajo los lineamientos del consejo canadiense para el cuidado animal del año 2007.⁵⁵

Cada animal permaneció en jaulas aisladas administrando agua *ad libitum*. Una vez finalizado el procedimiento se realizó eutanasia siguiendo las normas de la American Veterinary Medical Association⁵⁶

Grupos experimentales

La muestra estuvo compuesta por un total de 45 conejos, dividida en grupos de la siguiente manera:

- Grupo A (A) sometidos a isquemia renal por 30 minutos N = 15
- Grupo B (B) sometidos a isquemia renal por 60 minutos, N = 15
- Grupo C (C) sometidos a isquemia renal por 90 minutos, N = 15.

A su vez cada grupo se dividió en 3 sub grupos:

- Subgrupo 1: compuesto por 5 conejos sometidos al evento isquémico con infusión de DMSO (DMSO) por vía endovenosa 10 minutos previos al pinzado.
- Subgrupo 2: compuesto por 5 conejos sometidos al evento isquémico con administración de DMSO por vía endovenosa 10 minutos posterior al pinzado.

- Subgrupo 3: compuesto por 5 conejos sometidos al evento isquémico con administración intravenosa de Solución fisiológica al 0.9%.

El cuadro 1 muestra el resumen de la distribución de la muestra:

Cuadro 1. Distribución de la muestra

Grupo	Subgrupo	Código	Descripción	Número de animales
A	1	A1	Isquemia por 30 minutos + DMSO IV Pre pinzado.	5
	2	A2	Isquemia por 30 minutos + DMSO IV Post pinzado.	5
	3	A3	Isquemia por 30 minutos + SSN IV	5
B	1	B1	Isquemia por 60 minutos + DMSO IV Pre pinzado.	5
	2	B2	Isquemia por 60 minutos + DMSO IV Post pinzado	5
	3	B3	Isquemia por 60 minutos + SSN IV	5
C	1	C1	Isquemia por 90 minutos + DMSO IV Pre pinzado	5
	2	C2	Isquemia por 90 minutos + DMSO IV Post pinzado.	5
	3	C3	Isquemia por 90 minutos + SSN IV	5
			Total	45

Criterios de Inclusión

- Conejos machos.
- Conejos con peso entre 2.5 ± 1 Kg
- Conejos en buen estado de salud.

Criterios de exclusión

- Conejos con anomalías estructurales evidentes
- Conejos que fallezcan posterior a la inducción anestésica y previa finalización del procedimiento quirúrgico
- Conejos con anomalías renales macroscópicas.

Aleatorización de la muestra

La selección de las unidades experimentales se realizó asignando un número a cada conejo marcando sobre la piel de la oreja el número. Los números fueron colocados en una tómbola de donde se extrajeron uno a uno los números, colocando los números en cada grupo y subgrupo completando el número de animales designado, iniciando desde el G A1 hasta el G C3.

Preparación prequirúrgica.

Anestesia

Cada animal fue pesado y examinado para corroborar su estado general.

Se pre medicó mediante la inyección IM de Maleato de Acepromacina a una dosis de 0.1mg/kg, y Ketamina dosis de 30 mg/kg, se posicionó a la unidad experimental en decúbito lateral izquierdo para la aplicación de Procaína al 2% como anestésico local.

Las dosis de mantenimiento de anestesia consistieron en la aplicación intramuscular de

15mg/kg para Ketamina y 0.1mg/kg de Maleato de Acepromacina aplicados cada 15 minutos.

Preparación del área quirúrgica

Una vez comprobado el estado anestésico de la unidad experimental, se rasuraron ambos flancos y la región del hemicuello derecho. La asepsia del campo quirúrgico se realizó mediante la aplicación de Digluconato de Clorhexidina al 20%. Se procedió a la colocación de campos delimitando el campo quirúrgico.

Acceso venoso

Se disecó por planos hasta ubicar la vena yugular derecha(Ver imagen 5). Una vez identificada, se procedió a la canalización mediante catéter Venocath 22G o 24G y PRN para la administración de Solución Fisiológica 0.9%^{57,58} a un volumen de 10cc/kg/hora y de DMSO al 40% a razón de 3.8ml/kg en una sola aplicación según el grupo experimental.



Imagen 4. Cateterización de vena yugular derecha.

Procedimiento Quirúrgico.

En decúbito prono se practicó una incisión paravertebral bilateral, disecando por planos hasta ubicar ambos riñones y su respectivo hilio, aislando la arteria y vena renal del uréter. Una vez localizadas y aisladas se procedió a utilizar un clamp vascular atraumático para pinzar la arteria y vena renal de ambos riñones con el fin de provocar isquemia durante 30, 60 o 90 minutos dependiendo del grupo experimental. Finalizado el tiempo de isquemia, se procedió a liberar el paquete vascular, verificando la permeabilidad de ambas. Una vez reestablecido el flujo sanguíneo se mantuvo el periodo de reperfusión por seis horas, seguido de nefrectomía bilateral y eutanasia.

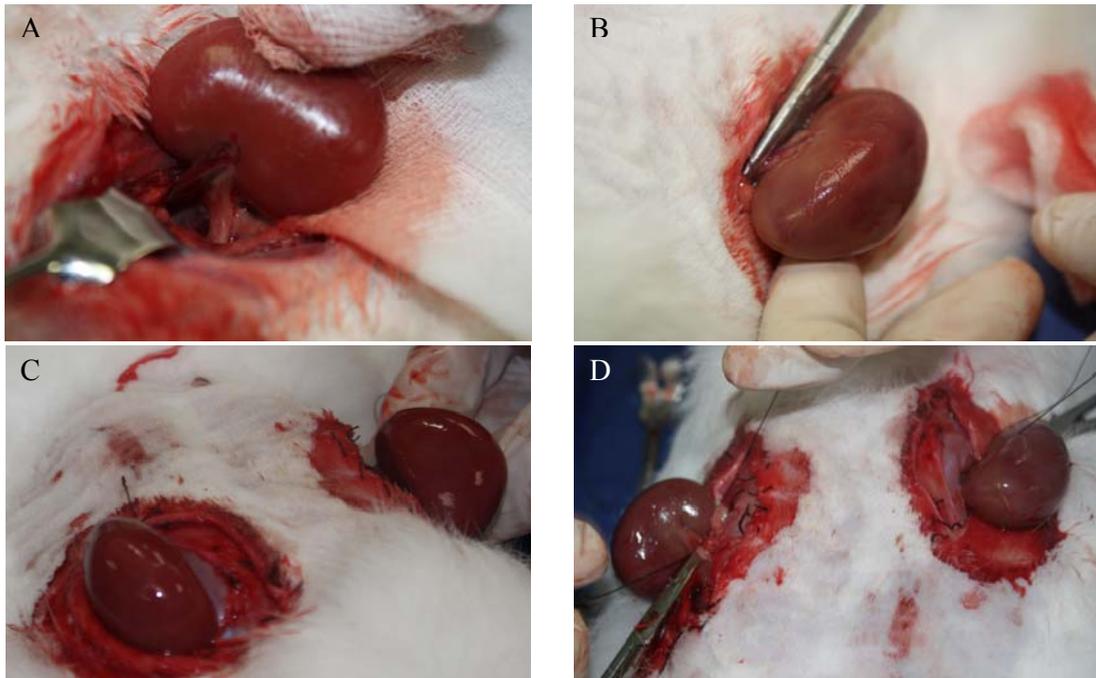


Imagen 5. Secuencia de eventos experimental para la instauración de isquemia-reperfusión A) Riñón sano previo inicio de isquemia coloración normal. B) Riñón sometido a isquemia renal recién iniciada. Nótese el cambio de coloración entre las dos imágenes, siendo el riñón de la imagen B más pálido. C) Riñones inmediatamente posteriores a la reperfusión. D) Riñones 6 horas posterior a la reperfusión previo a nefrectomía.

Intervención Terapéutica

A las unidades experimentales del subgrupo 1 se les administró una dosis de 3.8 ml/kg de una solución al 40% de DMSO, 10 minutos previo al pinzado del paquete vascular renal.

A las unidades del subgrupo 2 se les administró una dosis de 3.8 ml/kg de una solución al 40% de DMSO, 10 minutos posteriores al pinzado del paquete vascular renal.

A las unidades del subgrupo 3 se les administró un *bolus* de Solución Fisiológica al 0.9% vía intravenosa.

Eutanasia

Para tal efecto se administró Cloruro de potasio I.V. a dosis de 2 mmol/kg.⁵⁹

Toma de Muestras

Muestras sanguíneas (Ver imagen 6)

Con el fin de no causar alteraciones hemodinámicas en las unidades experimentales el volumen total de las muestras sanguíneas no excedió los 10cc/kg de peso.

Cada muestra fue de 3cc en cada toma:

- 1ª toma: Previo al inicio del procedimiento quirúrgico, estado basal
- 2ª toma: previo al retiro del pinzado de las arterias renales, isquemia renal
- 3ª toma: 6 horas posteriores al retiro del pinzado de las arterias renales, reperusión renal



Imagen 6. Toma de muestras sanguíneas a través de acceso venoso.

Muestras Anatomopatológicas

Al final del procedimiento y previa eutanasia se realizó nefrectomía bilateral (Ver imagen 7). Inmediatamente posterior a la nefrectomía se procedió a tomar el peso de cada riñón y luego a la sección longitudinal de las muestras colocando papel filtro en el medio. Se procedió a la fijación con formalina buferizada (pH 7.2 a 7.6 se logró

utilizando fosfatos, ortofosfato disódico anhidro y fosfato sódico) con duración de 5 días en promedio.



Imagen 7. Sección longitudinal de riñones previo a inmersión en formalina buferizada

Análisis de las Muestras

Muestras Séricas

Cada muestra fue procesada en equipo automatizado para el análisis de creatinina, urea, y nitrógeno ureico. Los valores de referencia se tomaron del Anexo 1.

Muestras Anatomopatológicas

Luego de la fijación, se procesaron con deshidratación con metanol anhidro con duración de 3 horas en 3 diferentes depósitos, luego se procede a aclaramiento con xylol con duración de 2 horas en 2 diferentes depósitos y finalmente embebimiento en parafina (Paraplast®) en dos diferentes baños por 2 horas. Posteriormente se realizaron los bloques de parafina y se solidificaron. Luego fueron realizados cortes al micrótomero rotatorio. Se realizaron 2 cortes de cada riñón (2 del derecho y 2 del izquierdo).

Se procedió a tinción histoquímica de hematoxilina eosina y de Acido Peryódico de Schiff para visualizar membranas basales. Todas las tinciones llevaban un testigo control, que en este caso se realizó con apéndice cecal. Luego se realiza la interpretación histológica con microscopio óptico binocular analizando cada lamina en 10 campos ecofuertes.

Los parámetros estudiados se enfocaron en la estructura de glomérulos, membrana basal, túbulo y corteza renal emitiendo un diagnóstico final de leve, moderado o severo de acuerdo a la siguiente distribución.

Cuadro 2. Clasificación de grado de lesión histopatológica.

Grado lesión	Hallazgos patológicos
Leve	Cariolisis
	Edema celular
	Membrana basal sin alteraciones
Moderado	Cariolisis focal
	Disrupción focal de la membrana basal
Severo	Necrosis total de epitelio tubular
	Fragmentación y colapso de la membrana basal

Análisis estadístico

Los valores obtenidos fueron tabulados en el programa Microsoft Excel y procesados mediante el programa Graphpad, analizados mediante ANOVA de medidas repetidas con Test de Friedman.

Variables

Variables independientes

Variable	Definición	Unidad
Tiempo de Isquemia (tI)	Duración del pinzamiento de las arterias y venas renales.	Minutos (min)
Tiempo de Reperusión (tR)	Periodo comprendido desde la liberación del pinzamiento de las arterias y venas renales hasta la nefrectomía bilateral	Horas (h)

Variables dependientes

Variable	Definición	Unidad	Valores normales
Creatinina (Cr)	Prueba química sanguínea marcador de la función renal	Mg/dL	0.5-2.5mg/dl
Nitrógeno Ureico (BUN)	Prueba química sanguínea marcador de la función renal.	Mg/dL	13-29mg/dl
Urea (U)	Prueba química sanguínea.	Mg/dL	N/A
Histología renal	Evaluación de la estructura histopatológica del tejido renal.	Daño Leve, Moderado o Severo	Extensión de daño de necrosis tubular y disrupción membrana basal

RESULTADOS

A continuación se presentan los datos obtenidos del análisis de las 45 unidades experimentales de experimentación cuya distribución se detalla en el cuadro 1.

Creatinina Sérica

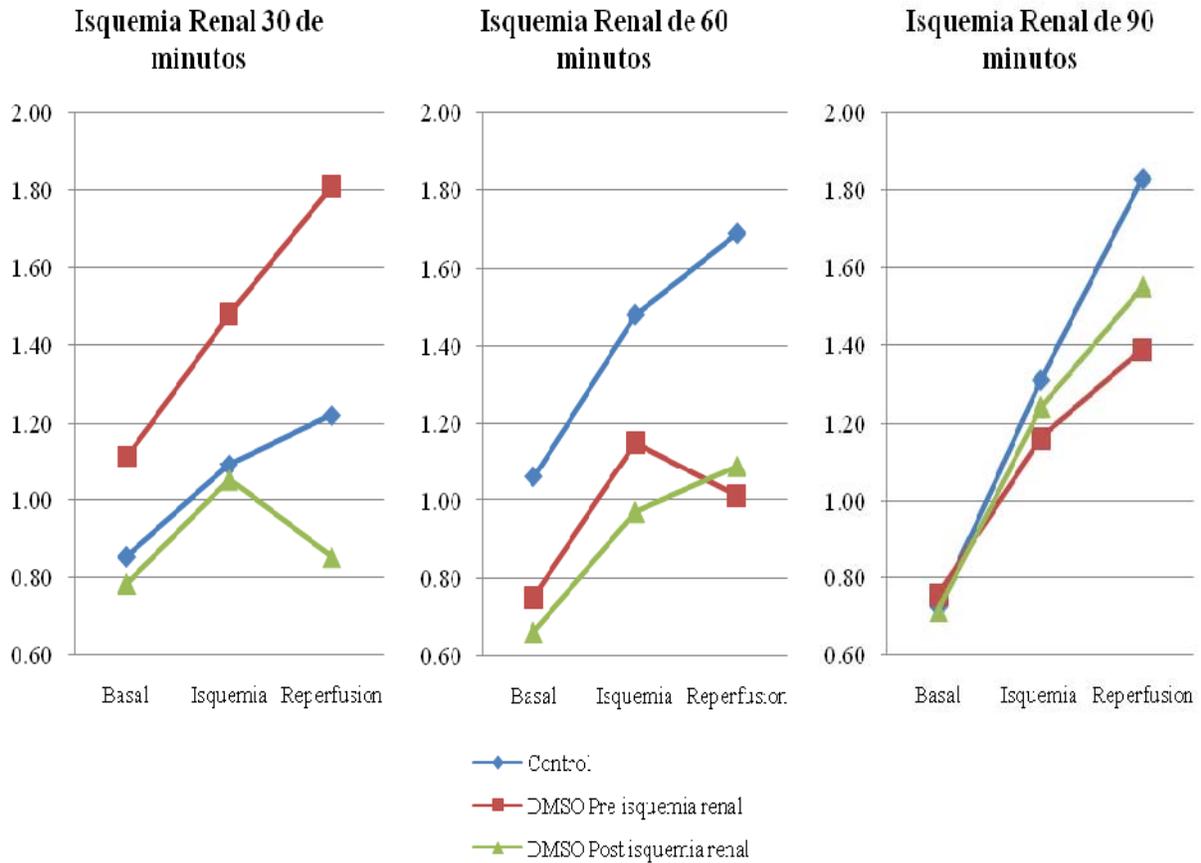
Las medianas de creatinina mostraron una tendencia al incremento en cada uno de los grupos siendo más notable en el grupo control, donde el aumento porcentual de los valores de creatinina desde la fase basal a la fase de reperfusión fueron del 44%, 59%, y 154% para los subgrupos con 30, 60 y 90 minutos de isquemia respectivamente. El análisis de la varianza (ANOVA) con test de Friedman mostro significancia estadística para el grupo control sometido a 90 minutos de isquemia ($p=0.00$), y no significancia para los grupos control expuestos a 30 y 60 minutos de isquemia ($p = 0.12$)

El grupo con administración de DMSO previo a la isquemia renal conservo la tendencia al aumento, aunque menos acentuada que en el grupo control, exhibiendo porcentajes de incremento de 63%, 35% y 85% para los subgrupos con 30, 60 y 90 minutos de isquemia respectivamente. La administración previa de DMSO en el grupo sometido a isquemia por 30 minutos ($p = 0.12$) no mostro diferencia estadísticamente significativa, por el contrario en los grupos de 60 y 90 minutos de isquemia ($p = 0.04$ y $p = 0.01$, respectivamente). (Ver cuadro 3)

Cuadro 3. Comportamiento de las medianas de las variables evaluadas. (n = 45, p < 0.05)

Grupos de Experimentación		Valor Basal (mg/dL)	Rango Inter cuartilico	Fase Isquémica (mg/dL)	Rango Inter cuartilico	Fase de Reperusión (mg/dL)	Rango Inter cuartilico	P = 0.05	Δ Total de Mediana	VARIABLE
DMSO CONTROL PRE ISQUEMIA	30 MIN	0.85	0.74 - 0.98	1.09	0.98 - 1.50	1.22	0.91 - 1.47	0.12	44%	CREATININA
	60 MIN	1.06	0.81 - 1.18	1.48	1.35 - 1.53	1.69	1.11 - 1.97	0.12	59%	
	90 MIN	0.72	0.64 - 1.31	1.31	1.16 - 1.75	1.83	1.60 - 2.22	0.00	154%	
	30 MIN	1.11	0.93 - 1.24	1.48	1.18 - 1.54	1.81	0.84 - 2.46	0.12	63%	
	60 MIN	0.75	0.60 - 0.80	1.15	0.91 - 1.21	1.07	0.64 - 1.15	0.04	35%	
	90 MIN	0.75	0.67 - 0.94	1.16	1.12 - 1.38	1.39	1.19 - 1.60	0.01	85%	
	30 MIN	0.78	0.65 - 0.93	1.05	0.87 - 1.20	0.85	0.69 - 1.03	0.01	9%	
	60 MIN	0.66	0.54 - 0.76	0.97	0.96 - 1.02	1.09	0.99 - 1.28	0.01	65%	
	90 MIN	0.71	0.59 - 0.98	1.24	1.06 - 1.71	1.55	0.86 - 1.83	0.02	118%	
DMSO CONTROL POST ISQUEMIA	30 MIN	15.00	12.79 - 16.71	18.99	17.62 - 21.20	20.00	19.86 - 23.45	0.01	33%	NITROGENO UREICO
	60 MIN	25.10	22.75 - 26.21	30.54	29.72 - 33.30	37.97	36.30 - 40.41	0.00	51%	
	90 MIN	22.50	20.20 - 23.05	25.50	24.66 - 27.98	35.85	34.89 - 36.90	0.00	59%	
	30 MIN	20.60	18.92 - 21.96	23.24	21.11 - 24.41	32.73	32.22 - 36.02	0.00	59%	
	60 MIN	15.28	14.22 - 17.67	18.47	17.61 - 20.38	21.95	20.38 - 23.48	0.00	44%	
	90 MIN	15.40	13.72 - 16.65	17.52	16.34 - 18.95	22.32	20.51 - 23.45	0.00	45%	
	30 MIN	14.30	12.41 - 14.45	18.45	16.64 - 20.44	17.71	15.36 - 18.34	0.02	24%	
	60 MIN	17.57	16.11 - 19.19	18.09	17.95 - 19.86	25.13	23.96 - 26.78	0.02	43%	
	90 MIN	17.35	16.18 - 17.97	19.87	19.25 - 21.25	24.38	24.01 - 26.40	0.00	41%	
DMSO CONTROL PRE ISQUEMIA	30 MIN	28.70	25.52 - 35.70	35.40	31.35 - 40.84	39.70	37.20 - 56.70	0.00	38%	UREA
	60 MIN	54.70	42.80 - 81.30	59.30	50.00 - 83.35	78.09	58.05 - 91.90	0.01	43%	
	90 MIN	45.30	43.28 - 70.30	56.60	52.80 - 68.66	76.70	69.35 - 141.1	0.01	69%	
	30 MIN	43.46	40.50 - 46.53	48.50	45.14 - 51.47	69.47	56.55 - 73.88	0.00	60%	
	60 MIN	32.69	30.44 - 37.80	39.25	34.62 - 43.62	46.98	43.62 - 50.24	0.01	44%	
	90 MIN	32.95	29.35 - 35.63	37.50	34.97 - 40.55	47.77	43.89 - 52.33	0.00	45%	
	30 MIN	30.60	26.56 - 46.96	36.12	30.48 - 49.10	40.46	30.08 - 53.87	0.00	32%	
	60 MIN	37.59	34.47 - 40.72	38.72	38.40 - 42.56	51.46	25.54 - 61.08	0.37	45%	
	90 MIN	37.13	30.11 - 38.46	42.53	37.97 - 45.48	50.70	45.41 - 56.48	0.00	37%	

La administración post isquemia de DMSO describe la misma tendencia los porcentajes de aumento fueron de 9%, 65% y 118% para los subgrupos con 30, 60 y 90 minutos de isquemia respectivamente, con significancia estadística en todos los grupos ($p < 0.05$)



Nitrógeno Ureico

Las medianas de la variable y el porcentaje de incremento con respecto a la fase basal muestran un cambio ascendente dentro de cada grupo observando incrementos porcentuales de 33%, 51% y 59% para 30, 60 y 90 minutos de exposición a la isquemia (Ver cuadro 3).

En el grupo que recibió tratamiento con DMSO previo al inicio de isquemia la tendencia en cada grupo se mantiene (ver grafica 2), los valores de la mediana incrementan con respecto al valor basal. Con variaciones porcentuales de 59%, 44% y 45% para tiempos de isquemia de 30, 60 y 90 minutos respectivamente.

El grupo que recibió tratamiento con DMSO posterior al inicio de la isquemia muestra un aumento de los valores de la mediana, con una variación progresiva entre los grupos de 30 y 60 minutos, siendo de 24% y 43% respectivamente. El grupo expuesto a isquemia renal de 90 minutos muestra un aumento total de 41%, 2% menos que el aumento presentado por el grupo con isquemia renal de 60 minutos.

El análisis de la varianza (ANOVA) con test de Fieman muestra una diferencia estadísticamente significativa con $p < 0.05$ en todos los grupos. (Ver cuadro 3)

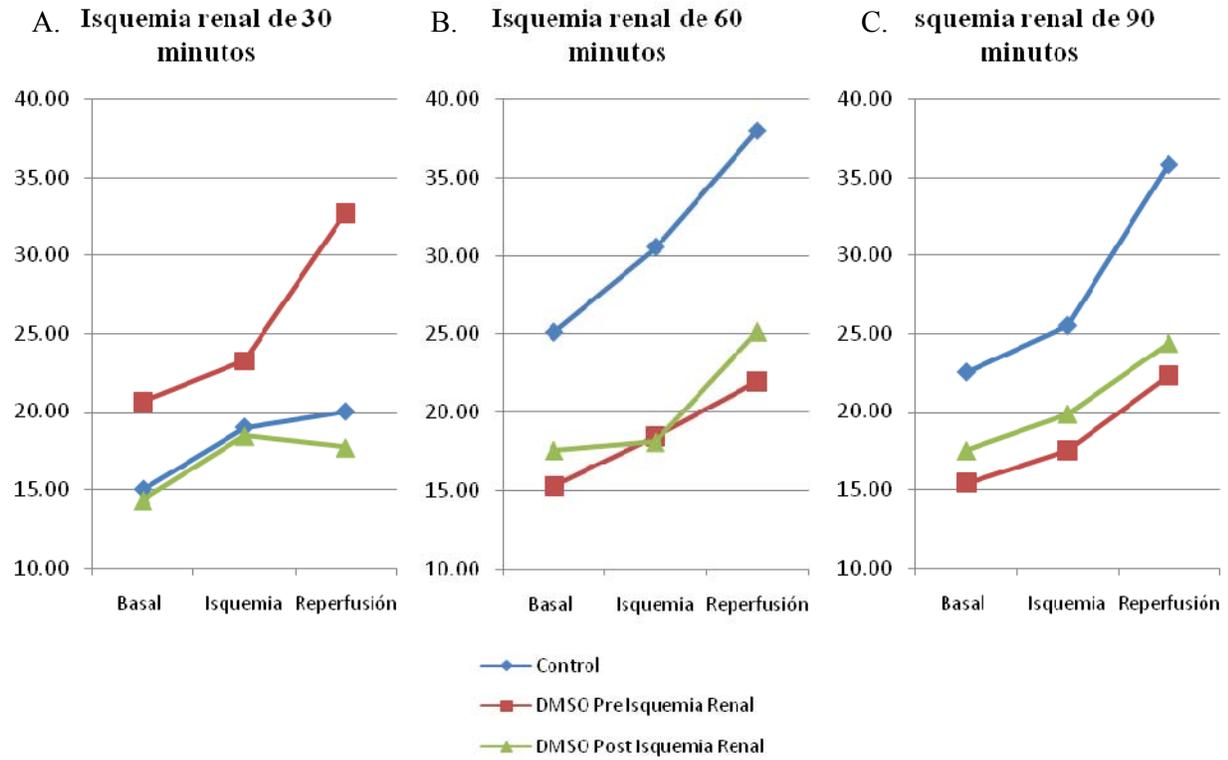


Gráfico 2. Comportamiento de medianas de Nitrógeno Ureico, comparando tratamientos versus tiempos de isquemia. A. Grupo sometido a isquemia renal por 30 minutos, B. Grupo sometido a isquemia renal por 60 minutos, C. Grupo sometido a isquemia renal por 90 minutos.

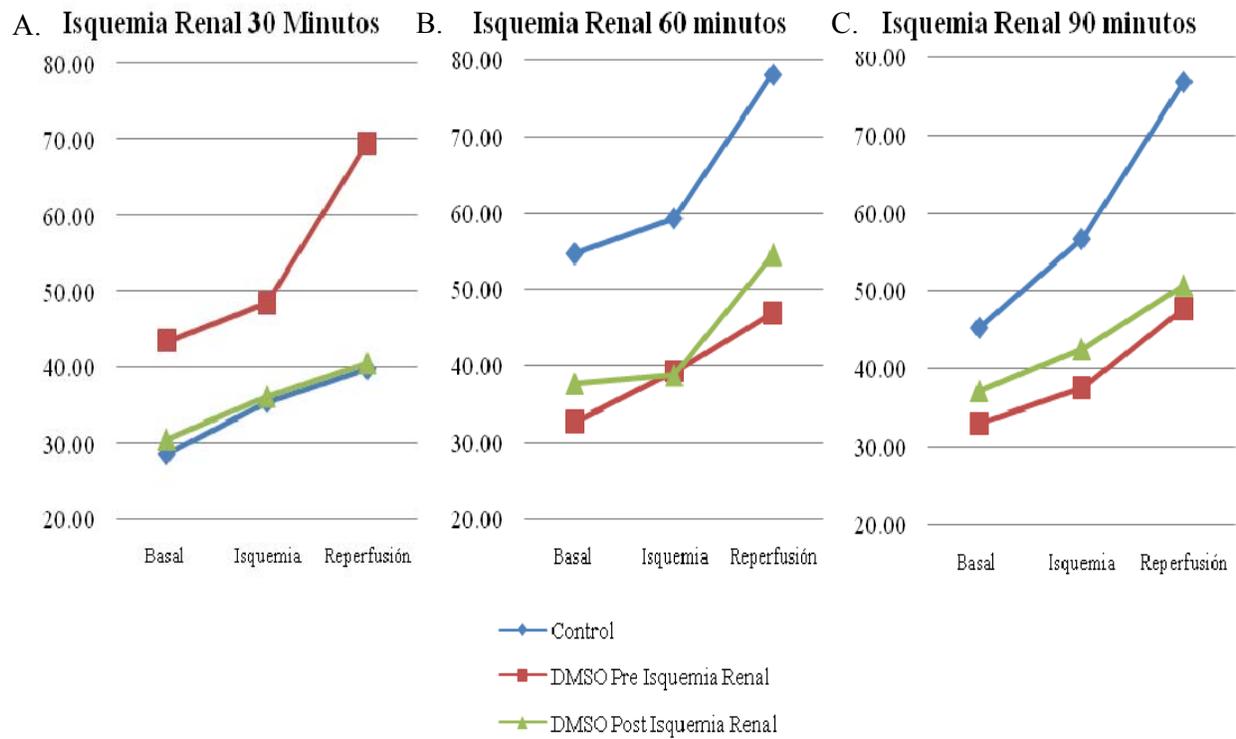
Urea Sérica

Las medianas de la variable en el grupo control muestran un ascenso progresivo en cada fase del procedimiento. Así mismo la variación porcentual aumenta a medida que el tiempo de isquemia se prolonga 38%, 43%, 69% para 30, 60 y 90 minutos de isquemia respectivamente (ver cuadro 3).

En el grupo que recibió tratamiento con DMSO previo al inicio de isquemia se observa un patrón inverso observando la mayor elevación del valor en el menor tiempo de isquemia 60%, 44% y 45% para 30, 60 y 90 minutos de isquemia respectivamente.

El grupo que recibió tratamiento con DMSO posterior al inicio de isquemia refleja un mayor incremento de los niveles en el grupo expuesto a 60 minutos con un 45%, versus 32% y 37% para periodos isquémicos de 30 y 90 minutos respectivamente.

El análisis de las varianzas (ANOVA) con test de Fieman muestra una diferencia estadísticamente significativa ($p < 0.05$) en todos los grupos a excepción del grupo que recibió tratamiento con DMSO posterior al inicio de la isquemia renal por 60 minutos ($p = 0.37$) (Ver cuadro 3).

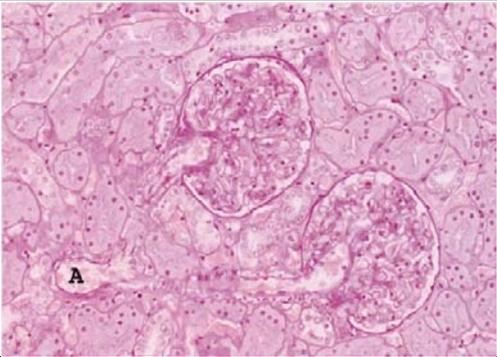
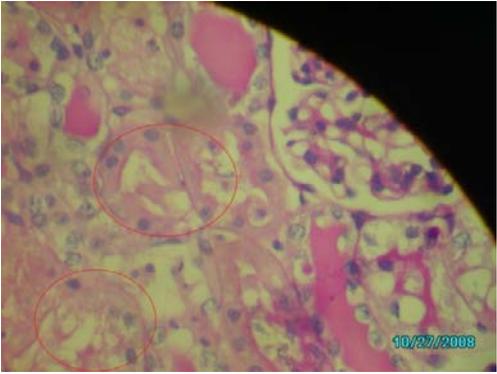
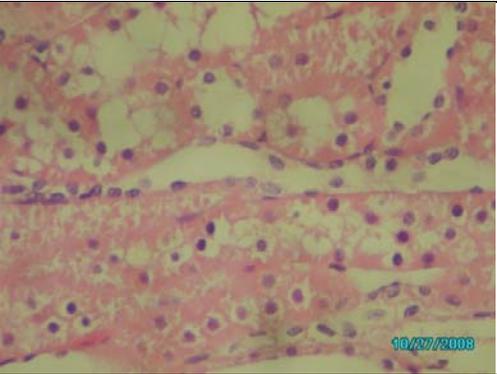


Gráfica 3. Comportamiento de medianas de Urea, comparando tratamientos versus tiempos de isquemia. A. Grupo sometido a isquemia renal por 30 minutos, B. Grupo sometido a isquemia renal por 60 minutos, C. Grupo sometido a isquemia renal por 90 minutos.

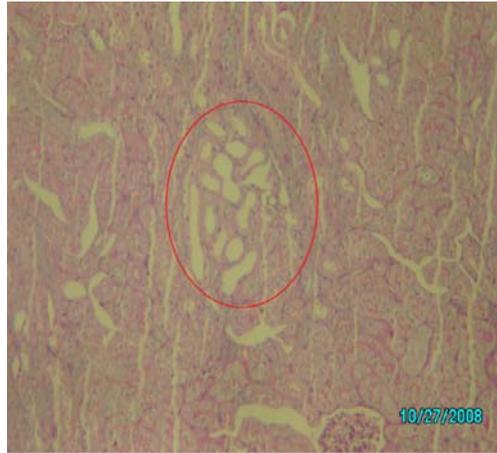
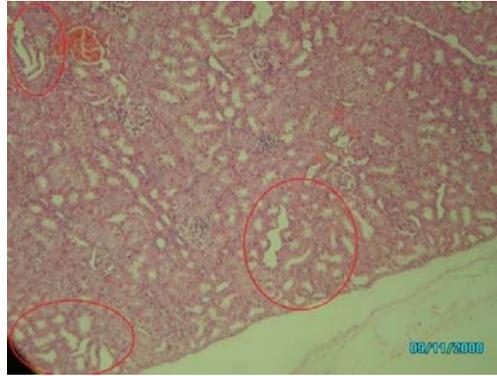
Resultados de Histopatología.

El análisis histopatológico de los riñones de las unidades experimentales se realizó con el fin de determinar el grado de severidad de las lesiones de acuerdo a los parámetros establecidos en la metodología (ver cuadro 4).

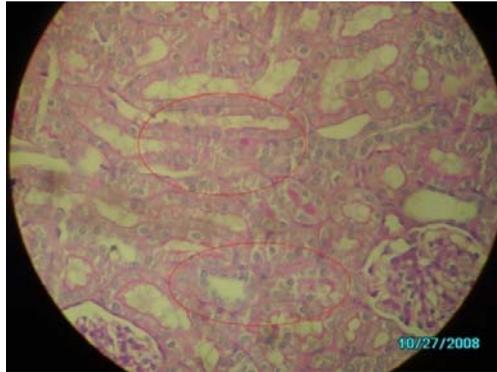
Cuadro 4. Hallazgos histopatológicos representativos encontrados en riñones sometidos a isquemia renal.

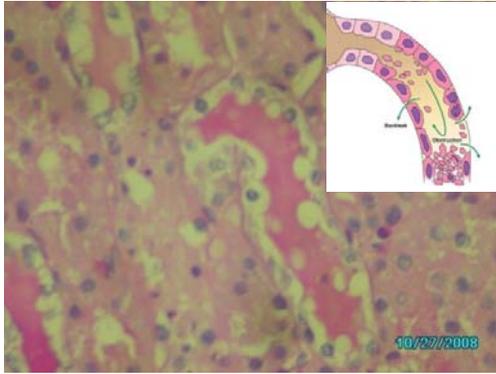
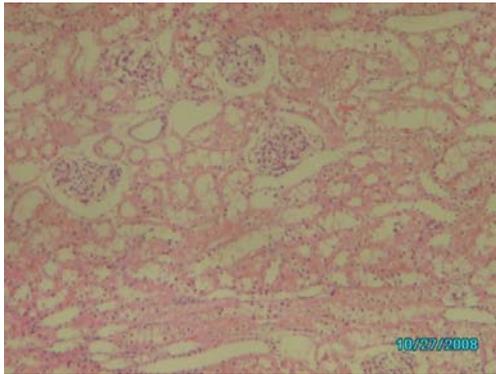
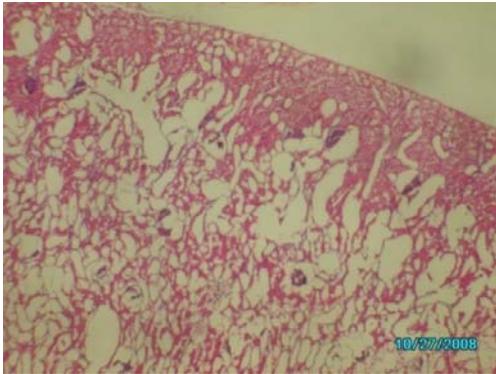
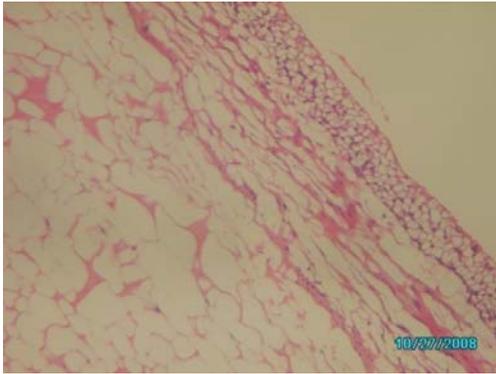
Hallazgo	Imagen
Riñón normal	 A light micrograph of a kidney section stained with hematoxylin and eosin (H&E). The image shows several glomeruli with distinct capillary loops and surrounding tubules. A small white circle with the letter 'A' is visible in the lower-left quadrant of the image.
Disrupción tubular	 A light micrograph of a kidney section stained with H&E, showing tubular disruption. Two red circles highlight areas where the tubular structure is abnormal, possibly indicating necrosis or severe damage. A date stamp '10/27/2008' is visible in the bottom right corner.
Disrupción tubular	 A light micrograph of a kidney section stained with H&E, showing tubular disruption. The image displays tubules with irregular shapes and some cellular debris, indicating damage. A date stamp '10/27/2008' is visible in the bottom right corner.

Dilatación tubular
(Lesiones focales)



Disrupción focal de la membrana basal.
(Lesiones focales)



<p>Cilindros hialinos</p>	
<p>Necrosis tubular. (Lesiones extensas)</p>	
<p>Necrosis y fragmentación tubular extensa (Lesiones severas)</p>	
<p>Fragmentación tubular extensa generalizada. (Lesiones severas)</p>	

Distribución de los hallazgos.

El daño observado en el grupo control posterior a la isquemia-reperusión se distribuye de la siguiente manera: 33% de las unidades experimentales presentaron cambios severos, 20% presentaron cambios moderados y 46% cambios leves. Para las unidades experimentales que presentaron daños severos, 60% son parte del grupo sometido a isquemia renal por 90 minutos, y 20% para isquemia renal de 30 y 60 minutos, respectivamente.

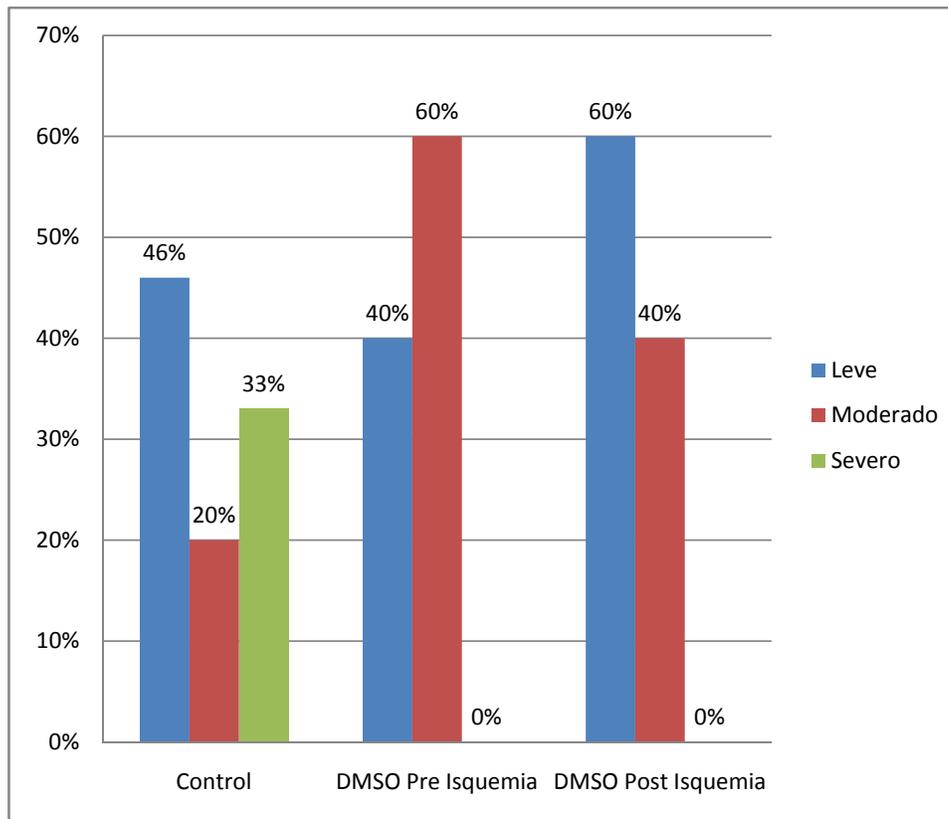
En el grupo con aplicación de DMSO previo al inicio de la isquemia se evidenció la ausencia de daños severos. Se observa un aumento del porcentaje de unidades experimentales con lesiones moderadas con respecto al control, este aumento corresponde a un 40%, y el porcentaje de unidades experimentales con lesiones leves se mantuvo en un 40%.

Al aplicar al DMSO posterior al inicio de la isquemia tampoco se evidenciaron daños severos. El porcentaje de unidades experimentales con daños moderados aumentan a 40% (aumento del 20% con respecto al control). Los cambios leves se presentaron en el 60% de las unidades experimentales, 14% más que en el grupo control.

Es de notar que no se registraron cambios glomerulares o vasculares en los cortes histológicos. (Ver cuadro 4)

El análisis por Chi cuadrado muestra una significancia estadística con $p = 0.00$.

Grafica 4. Distribución de hallazgos histopatológicos según tratamientos independiente duración de isquemia renal. (n = 45)



Cuadro 5. Distribución porcentual de hallazgos histopatológicos según los grupos control. (n = 15)

	Leve	Moderado	Severo
Isquemia Renal de 30 minutos	80%	0%	20%
Isquemia Renal de 60 minutos	60%	20%	20%
Isquemia Renal de 90 minutos	0%	20%	80%

Cuadro 6. Distribución de unidades experimentales sometidas a los diferentes tiempos de isquemia renal y tratamiento. (Valores obtenidos de acuerdo a un estimado de proporción)

			Leve	Moderado	Severo
Isquemia Renal de 30 minutos	DMSO Pre Isquemia		40%	60%	0
	DMSO Post Isquemia		20%	80%	0
Isquemia Renal de 60 minutos	DMSO Pre Isquemia		40%	60%	0
	DMSO Post Isquemia		100%	0	0
Isquemia Renal de 90 minutos	DMSO Pre Isquemia		100%	0%	0%
	DMSO Post Isquemia		0%	100%	0%

El cuadro 5 demuestra una relación directa entre el tiempo de isquemia renal y la severidad del daño tisular, en el grupo control.

A los 30 minutos de isquemia la administración pre del DMSO muestra una distribución a predominancia del daño moderado (60%), seguida por el daño leve (40%) y la ausencia de daño severo. (Ver cuadro 5). Mientras que la aplicación posterior de la sustancia muestra distribuciones de 80% de daño moderado y 20% de daño leves.

En las unidades experimentales sometidos a 60 minutos de isquemia renal se observa que aplicación del DMSO posterior al inicio de la isquemia se evidencian lesiones leves en su totalidad. (Ver cuadro 6) Al administrar el tratamiento pre se observa una distribución del 40% para el daño leve y 60% para el daño moderado.

La histopatología de los riñones de unidades experimentales sometidas a 90 minutos de isquemia, refleja que el 100% a los que se les administro el DMSO antes de la isquemia presentan lesiones leves. Las unidades experimentales a las que se les administra la sustancia posterior al inicio de la isquemia presentan lesiones moderadas en un 100%.

(Ver cuadro 6)

DISCUSIÓN

El riñón es un órgano complejo, con funciones vitales para el mantenimiento de la hemodinamia sistémica y la homeostasis hidroelectrolítica. Su funcionalidad dependiente de la perfusión se ve comprometida en algunas entidades clínicas; como el síndrome de isquemia reperfusión, en donde la función excretora del riñón fracasa ante el daño y se produce una consecuente acumulación de desechos nitrogenados, que conllevan a la insuficiencia renal aguda (IRA), resultante del deterioro brusco y sostenido de la filtración glomerular. A pesar de los adelantos terapéuticos incorporados en las últimas décadas, dicha entidad mantiene una elevada mortalidad, cercana al 50%.³

Según Schrier y cols, entre los cambios metabólicos, morfológicos y funcionales producidos por la caída del aporte sanguíneo se destacan las alteraciones en los niveles de ATP, generación de Radicales Libres de Oxígeno (RLO), cambios en los niveles de calcio citoplasmático, pérdida de la polaridad celular y de las microvellosidades apicales, modificaciones en las uniones intercelulares y la membrana basal y redistribución de los componentes del citoesqueleto. Las alteraciones en la funcionalidad incluyen el aumento de la permeabilidad del epitelio y la pérdida de la regulación del tráfico de sustancias. Todos estos cambios observables en mayor o menor extensión en función de la severidad y duración de la isquemia.⁶⁰ Tal y como se observa en la distribución del daño tisular para el grupo control del modelo animal propuesto. (Ver cuadro 4).

La falla renal aguda manifiesta el deterioro súbito de la función renal mediante la elevación del nitrógeno ureico y el aumento del 50% de la creatinina sérica sobre el nivel basal.¹³ La tendencia general al incremento de los valores plasmáticos de las

variables en el grupo control refleja un deterioro de la función renal ocasionada por la isquemia, el comportamiento del valor porcentual de las medianas demuestra una relación directa con el tiempo de exposición al insulto isquémico (Ver cuadro 3). Hallazgos que junto con el análisis histopatológico confirman la existencia de dicha falla en las unidades experimentales pertenecientes al grupo control expuesto a 60 y 90 minutos de isquemia con incrementos porcentuales correspondientes a 59% y 154% respectivamente, y un 43% de incremento porcentual para el grupo sometido a 30 minutos de isquemia (véase cuadro 3).

El factor más importante como tratamiento de la IRA pre renal es la eliminación de la causa de la hipoperfusión renal, ya sea obstructiva o hipovolemica,⁶ con el fin de restablecer la entrega tisular de oxígeno y evitar la falla orgánica irreversible.¹⁵ Sin embargo en este intento, es conocido el efecto negativo de la entrada masiva de oxígeno al tejido anóxico que conlleva a la sobreproducción de RLO, dañando en forma directa la membrana y el DNA celular, principalmente, evidenciándose experimentalmente en este modelo, por la mayor elevación porcentual en los valores séricos de todas las variables de la fase de reperfusión del grupo control (ver cuadro 3).

La búsqueda de sustancias con efecto protector o mitigador del daño renal post isquemia constituye un paso más para el establecimiento de alternativas terapéuticas en pacientes con compromiso isquémico renal, centrar la atención en sustancias con efecto antioxidante resulta lógico ante el protagonismo de los radicales libres de oxígeno en la fisiopatología del daño tisular por isquemia-reperfusión.^{13,14,15,61}

El DMSO es una sustancia poco conocida con propiedades anfotéricas, altamente soluble en medios acuosos y orgánicos, con múltiples usos, entre los que se destaca la acción antioxidante, crioprotectora, analgésica y anti inflamatoria, entre otras.³⁰ Muchas

de estas características juegan un rol importante en el manejo de diversas patologías dentro de las cuales se destacan condiciones en donde se presenta el fenómeno de isquemia-reperfusión. Los estudios realizados en órganos diferentes al riñón, hasta la fecha, revelan posibles mecanismos terapéuticos de esta sustancia en dicho fenómeno. La limitada información sobre la utilización de esta sustancia en eventos de isquemia-reperfusión renal llevo al desarrollo de este estudio en el que se planteo el uso del DMSO como posible agente terapéutico en un modelo animal de isquemia-reperfusión renal.^{30,63,64}

La administración de esta sustancia pudo influir en el proceso investigado en tres formas: a) producir mejoría, b) producir deterioro, o c) no influir en la historia natural del proceso.

Aún cuando ambos tratamientos están basados en la misma sustancia, el momento de aplicación con respecto al inicio de la isquemia es la variante entre uno y otro grupo. El objetivo de la aplicación previo al inicio de la isquemia es lograr que el DMSO a través del torrente sanguíneo se distribuya a todos los tejidos, especialmente al tejido renal, antes de que se instaure el ambiente hipóxico, en otras palabras un riñón completamente sano. Por otro lado, la aplicación del DMSO posterior al inicio de la isquemia renal busca que el sustancia llegue a un tejido hipóxico lesionado, pero en donde el fenómeno de reperfusión no ha iniciado.

Los unidades experimentales pertenecientes al grupo control reciben únicamente solución fisiológica durante el tiempo que dura la isquemia y durante la reperfusión tomando como premisa que la expansión de volumen resulta ser un factor preventivo importante en casos de IRA pre renal.^{14,65}

La liberación de la oclusión en el modelo propuesto abre la puerta a dos posibilidades: la primera siendo que la restauración del flujo renal termine en una eventual

recuperación completa del tejido con una mejoría paulatina de las químicas sanguíneas y la segunda siendo la instauración del fenómeno de reperfusión provocando la causa de un mayor daño tisular atribuido a los radicales libres de oxígeno principalmente, también viéndose involucrados derivados eicosanoides.¹⁸ Múltiples estudios enfocan el fenómeno de isquemia reperfusión en el contexto de los trasplantes tratando de simular el fenómeno lo más cercano posible a la ocurrido en la clínica, permitiendo un periodo de reperfusión en término de días.⁶⁶ Sin embargo, pocos estudios evalúan el daño por reperfusión en los primeros momentos de recuperación del flujo. Se consideró importante en la creación del modelo propuesto la evaluación del fenómeno de reperfusión en un corto periodo de tiempo con la intención de simular una situación clínica aplicada a otro contexto clínico: por ejemplo, la IRA asociada a choque hipovolémico, en el cual la restauración de un estado hemodinámico debe de hacerse en concepto de horas y no de días. Este enfoque es un intento novedoso por plantear la posibilidad de considerar que el manejo de fenómeno de reperfusión puede evaluarse en lapsos cortos de tiempo.

Es indispensable que para poder comparar efectos de diferentes tratamientos se estudien ante la misma magnitud de lesión, es decir con el mismo tiempo de isquemia.

En escenarios clínicos los parámetros sanguíneos son utilizados para evaluar progresión o mejoría de patologías renales. Se ha descrito que las químicas sanguíneas tal como la creatinina, el Nitrógeno Ureico y la Urea no predicen el destino de la funcionalidad renal, sin embargo muestran la dirección o tendencia que sigue el fenómeno, y sería posible suponer que la prolongación del daño, es decir de la isquemia, finalmente se traducirá en falla renal y eventualmente a sus complicaciones fatales.^{14, 67, 68} Es importante recordar que los niveles séricos de todas las variables analizadas mostraron un aumento independientemente del tiempo de isquemia y del tratamiento, hallazgo que

nos permite concluir la administración del DMSO no revierte el daño por el evento de isquemia-reperfusión(ver cuadros 2, 7 y gráfica 4).

Creatinina Sérica

La creatinina sérica fue evaluada teniendo como parámetro, sus valores normales en conejos, siendo estos de 0.5 a 2.5 mg/dL. Es importante hacer notar, que ninguno de los 45 unidades experimentales, independientemente al grupo al que correspondían, presentó valores fuera de los normales (ver cuadro 3). Al observar el comportamiento de la creatinina en el grupo que recibe tratamiento con DMSO previo al inicio de la isquemia, resulta interesante comparar las variaciones totales de este parámetro con tiempos de isquemia de 60 y 90 minutos con respecto al grupo control, con un aumento de 35% y 85% versus 59% y 154% de los grupos control. Para un periodo de isquemia de 30 minutos la aplicación DMSO no produce un beneficio comparado con el control (Ver cuadro 3).

Al aplicar el tratamiento con DMSO posterior al inicio de la isquemia renal, se observa que independientemente del tiempo de isquemia, siempre se obtiene un mejor resultado de los valores de creatinina con respecto a las unidades experimentales control. Como se evidencia en la gráfica 1A, los valores de este parámetro sufren una disminución con respecto al periodo de perfusión únicamente para isquemia de 30 minutos, mostrando un aumento del 9% versus un 44% del grupo control. Para tiempos de isquemia de 60 y 90 minutos el aumento de este parámetro con dicho tratamiento es del 65% y 118% en comparación con 59% y 154% del grupo control. Por lo tanto se puede afirmar que la administración del DMSO posterior al inicio de la isquemia, fue más beneficiosa a los 30 y 90 minutos.

Nitrógeno Ureico Sérico

El nitrógeno ureico en conejos, posee un valor normal de 13 a 29 mg/dL. Como muestra la gráfica 2 los valores de este parámetro mostraron un aumento progresivo desde la medición basal. La aplicación del DMSO previo al inicio de la isquemia renal para un tiempo de isquemia de 30 minutos no muestra beneficios en este parámetro con respecto al control (ver gráfica 2 A). En los grupos que fueron sometidos a este tratamiento y a isquemia renal por 60 y 90 minutos se observa que el aumento total de este parámetro es de 44% y 45% versus un 51% y 59% presentados en el control (con diferencia estadística muy significativa $p < 0.01$, ver cuadro 3).

La aplicación de la sustancia posterior al inicio de la isquemia se observa una tendencia similar al presentado con el tratamiento previamente mencionado, independientemente del tiempo de isquemia al que fueron sometidos. Todos con significancia estadística significativa $p < 0.05$.

Urea Sérica

La urea sérica presenta un comportamiento con tendencias muy parecidas a las de la creatinina y nitrógeno ureico sérico. Parecen predominar los efectos beneficiosos del DMSO en todos los grupos, excepto en el grupo sometido a isquemia renal de 30 min en el que la sustancia se aplica previo al inicio de la isquemia renal.

Por lo ya mencionado, es evidente que la aplicación del DMSO evita la retención azoada y de creatinina, en comparación al grupo control.

Histopatología

Como complemento a las variables químicas se evaluaron los hallazgos histopatológicos de ambos riñones. Estos son un reflejo de los efectos lesivos de la isquemia y de la restauración del flujo sanguíneo secundarios. Sin embargo diferenciar con exactitud cual hallazgo se debe a alguno de los procesos específicos resulta difícil e incluso innecesario pues un proceso no se desliga del otro. La liberación de radicales de oxígeno, la falla de los mecanismos antioxidantes y otros procesos moleculares llevan hacia la lesión tubular ocasionando cambios progresivos que se manifiestan como Necrosis Tubular Aguda.⁶⁰

Todos los riñones que fueron evaluados, 90 en total, presentaron algún grado de lesión tubular secundaria a isquemia, variando en severidad y extensión del daño. Al evaluar la aplicación de la sustancia sin considerar el tiempo de isquemia renal se observó que ninguno de las unidades experimentales presentó daño histológico severo, a diferencia del grupo control en el que estos cambios se presentaron en el 33% de las unidades experimentales. Este hallazgo indica que la sustancia permite que las lesiones se mantengan por debajo de niveles que podrían considerarse irreversibles. En las unidades experimentales que no alcanzaron lesiones severas se desconoce si cuentan con la capacidad de progresar o de revertir el daño, lo cual podría ser evaluado realizando estudios histopatológicos renales en controles subsecuentes, días o semanas posterior a la intervención.

La severidad de la Necrosis Tubular Aguda es directamente proporcional al tiempo de isquemia como se menciona anteriormente, esto se ve reflejado en la distribución de los unidades experimentales con lesiones severas (n = 5), 60% de los unidades experimentales fueron expuestos a isquemia renal por 90 minutos, 20% a isquemia por 60 minutos y el 20% restante a isquemia renal por 30 minutos.

A medida que progresa el tiempo de isquemia renal se espera que el daño histológico sea mayor, lo cual no se observa con la aplicación del DMSO, es entonces cuando podemos aseverar que el tratamiento cuenta con un efecto protector ante la progresión a corto plazo de dicho proceso.

Es importante hacer notar los efectos beneficiosos del tratamiento con DMSO en el presente modelo de isquemia-reperfusión renal. Tanto los parámetros químicos como los hallazgos histopatológicos sugieren que la presencia del DMSO ofrece un grado de menor intensidad en los cambios esperados u observados en la IRA de causa pre renal isquémica. Los tratamientos convencionales de dicha patología están enfocados en el manejo sistémico del estado de hipoperfusión o de alteración hemodinámica, así como controlar desbalances hidroelectrolíticos, secundarios al deterioro de la función renal. Dentro del manejo actual de los estados hipóxicos, como el choque hipovolémico, no se contemplan medicamentos que se centren en el riñón y en minimizar su deterioro. Es decir que en el transcurso del tiempo en el que la perfusión sistémica no se restablece el riñón sigue estando desprotegido de los radicales libres de oxígeno y mecanismos inflamatorios. Es aquí donde el DMSO juega un rol importante, ya que su administración posterior al inicio de la isquemia renal ha mostrado resultados que permitan considerarlo una alternativa como prevención secundaria en caso de IRA, esto no es más que la extrapolación del potencial que muestra este tratamiento. Siguiendo la misma línea de pensamiento, su administración a un tejido sano que posteriormente se somete a eventos de isquemia-reperfusión, muestra resultados que permiten identificar un probable efecto protector o profiláctico en escenarios clínicos donde la isquemia renal sea algo programado o identificable previo a su aparición, tal como en el caso de trasplantes renales, recordando de nuevo que son tan solo suposiciones ambiciosas.

En síntesis y en retrospectiva nos encontramos ante la presencia de una sustancia que ha demostrado resultados importantes, evitando que el proceso de isquemia-reperusión alcance los máximos grados de daño a la función renal posible. Esta sustancia no es solamente una ventana de grandes posibilidades para futuros enfoques de investigación, sino también una sustancia accesible económicamente y potencialmente aplicable a procesos fisiopatológicos similares en otros órganos. Al encontrar que el DMSO cuenta con efectos protectores y/o amortiguadores del daño renal ante eventos de isquemia-reperusión, la inquietud que generó en un principio, el desarrollo de este trabajo se ve acrecentada y magnificada en un intento por obtener de esta sustancia la mayor cantidad de beneficios posibles y con ello, una mejor oportunidad de preservar la vida de seres humanos.

CONCLUSIONES

- El modelo experimental creado logra simular el escenario fisiopatológico de un evento de isquemia-reperfusión renal.
- Los 3 periodos de tiempos de oclusión del flujo renal utilizados producen cambios histológicos clásicamente encontrados en la Necrosis Tubular Aguda de origen isquémico y aumento de los parámetros químicos séricos asociados a Insuficiencia Renal Aguda.
- Se observó que los cambios histopatológicos más severos corresponden en una mayor proporción a las unidades experimentales sometidos a tiempos de isquemia más prolongados y que no recibieron tratamiento con Dimetilsulfóxido (DMSO).
- En este modelo, el parámetro sérico que muestra variaciones más pronunciadas ocasionadas por las variables manipuladas (tiempo de isquemia y momento de aplicación del DMSO) es la creatinina.
- La administración endovenosa de DMSO previo al inicio de la isquemia no muestra efectos beneficiosos en los parámetros séricos ni histopatológicos, ante una duración de isquemia renal de 30 minutos.
- Ante tiempos de isquemia renal de 60 y 90 minutos, la administración endovenosa de DMSO previo al inicio de isquemia renal muestra características profilácticas similares en los parámetros séricos e histopatológicos, en este último siendo notoriamente más efectivo con el tiempo más prolongado de isquemia.

- La aplicación del DMSO posterior al inicio de isquemia renal evita la progresión que la Necrosis Tubular Aguda alcance el mayor grado de severidad, independiente de la duración de la isquemia.
- La administración del DMSO posterior al inicio de la isquemia renal ofrece efectos terapéuticos con periodos de 30 minutos y 90 minutos únicamente, basado en parámetros sanguíneos.
- En la aplicación del DMSO posterior a isquemia con duración de 60 minutos los hallazgos histopatológicos no tienen relación directa con los parámetros de química sanguínea.
- Los resultados obtenidos permiten identificar la superioridad del DMSO versus el control, pero no permiten identificar esta misma ventaja de acuerdo al momento de administración.

RECOMENDACIONES

- Aumentar el número de unidades experimentales para así obtener mejores resultados con significancia estadística.
- Futuros estudios bajo este mismo tema se enfoquen en las variables independientes en las que el DMSO haya mostrado tener mayor repercusión: a) extender el estudio enfocándose en el tiempo de isquemia, entre 60 y 90 minutos; b) la aplicación de la sustancia posterior el inicio de reperfusión.
- Estudios enfocados en la búsqueda de concentración efectiva mínima con disminución de efectos adversos.
- Realizar monitoreo continuo de los signos vitales, variables hemodinámicas y la diuresis de los unidades experimentales.
- Los parámetros sanguíneos examinados podrían ser evaluados a intervalos de tiempo más cortos.
- Realizar estudios que evalúen los efectos de la sustancia con periodos de reperfusión más prolongados (24-48 horas).
- Realizar estudios que estudien la sobrevida de los animales.
- Considerar efectos de la administración repetida de dosis del DMSO.

CRONOGRAMA DE ACTIVIDADES

MES \ ACTIVIDAD	ABRIL	MAYO	JUNIO	JULIO	AGOSTO	SEPTIEMBRE	OCTUBRE	NOVIEMBRE	DICIEMBRE	ENERO	FEBRERO	MARZO	ABRIL
Entrega de protocolo a comité de tesis.													
Entrega de solicitud de asesor.													
Resolución de comité de tesis													
Modificaciones de protocolo.													
Prueba piloto													
Actividades de gestión de insumos													
Actividades de adquisición de insumos													
Realización de experimentos													
Obtención de resultados													
Tabulación de resultados													
Análisis de resultados													
Redacción de tesis													
Entrega de Tesis													
Defensa de tesis													

ESTIMACIÓN DE PRESUPUESTO

Las unidades de experimentación fueron adquiridas en granjas de conejos. La realización de los exámenes de química sanguínea fueron gestionados en búsqueda de un subsidio parcial de los costos con un laboratorio privado. La adquisición de los insumos físicos así como la adquisición de medicamentos corrió bajo costos del grupo de tesis parcialmente, el resto se gestionara a través de casas farmacéuticas. El análisis anatomopatológico fue gestionado con un médico patólogo privado. A continuación se observan los costos de la investigación realizada:

• Unidades Experimentales:	\$ 450
• Medicamentos:	\$ 800
• Exámenes de laboratorio:	\$ 550
• Análisis histopatológico:	\$ 450
• Insumos Hospitalarios:	\$500
• Alimentación de Unidades Experimentales:	\$ 50
• Gastos de transporte y alimentación:	\$ 200
• Papelería	\$50
• Imprevistos:	\$ 300

Total: \$ 3,350

ANEXO

Anexo 1. Intervalo de referencia de los valores bioquímicos séricos del conejo.⁶⁹

Albúmina	2.4-4.6 g/dl
Fosfatasa Alcalina	4-16 U/L
Amilasa	166.5-314.5 U/L
Bicarbonato	16-38 mEq/L
NUS	13-29mg/dl
Calcio	5.6-12.5 mg/dl
Cloro	92-112/mEq/L
Colesterol	10-80 mg/dl
Creatinina	0.5-2.5mg/dl
Globulina	1.5-2.8 mg/dl
Glucosa	75-155 mg/dl
Transaminasa glutámico oxalacética	14-113 U/L
Transaminasa glutámico pirúvica	48-80 U/L
Lactato deshidrogenasa	34-129 U/L
Fósforo	4-6.9 mEq/L
Potasio	3.6-6.9 mEq/L
Proteína Serica	5.4-8.3 g/dl
Sódio	131-155 mEq/L
Bilirrubina total	0-0.7mg/dl
Lípidos totales	243-390 mg/dl

BIBLIOGRAFÍA

-
- ¹ Miyahira, J. Insuficiencia Renal Aguda. Rev. Medica Herediana, vol. 14, No 1, 2003
[Consultado 13 de Febrero 2008], Disponible World Wide Web:
http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1018130X2003000100006&lng=pt&nrm=iso&tlng=es
- ² Ministerio de Salud Publica y Asistencia Social, Enero 2007, Memoria Laboral, Disponible en la World Wide Web:
http://www.mspas.gob.sv/pdf/memoria_lab2006_2007/Informe_Labores_2006-2007.pdf
- ³ Lieberthal W, Nigam SK. Acute renal failure. II. Experimental models of acute renal failure: imperfect but indispensable. Am J Physiol Renal Physiol; 278(1):F1-F12, 2000.
- ⁴ Devarajan P. Cellular and molecular derangements in acute tubular necrosis. Curr Opin Pediatr; 17(2):193-9, 2005.
- ⁵ Devajaran P, Update on Mechanisms of Ischemic Acute Kidney Injury, J Am Soc Nephrol 17: 1503–1520, 2006.
- ⁶ Vidor Guerra, E, Garcia Lopez, V, Betancourt Valladares, M, Consecuencias funcionales en riñones de ratas sometidos a isquemia. Rev Cubana Invest Bioméd. [online]. sep.-dic. 2006, vol.25, no.4 [citado 13 Febrero 2008], p.0-0. Disponible en la World Wide Web:
<http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0864-03002006000400007&lng=es&nrm=iso>. ISSN 0864-0300.
- ⁷ Torres A., Conde C., Martín M., González Fajardo J.A., Gutiérrez V., Carrera S., Vaquero C., Prevención del daño renal tras isquemia aguda mediante la administración de PGE1. Estudio morfométrico. Angiología 2001; 53 (6): 381-392. Disponible en la World Wide Web:
<http://www.angiologia.es/sec/busqueda.php#Inicio>
- ⁸ Moore, K., Dalley, A., Anatomía con Orientación Clínica, 4ª Edición, Lippincott Williams & Wilkins, p. 285, 1999.

-
- ⁹ Guyton A., Hall John., Tratado de Fisiología Médica 10ª Edición, Mc Graw Hill Interamericana, p. 341-343, 2001.
- ¹⁰ Cotran R., Kumar V., Collins T., Robbins Pathologic Basis of Disease, 6ª Edition, W.B Saunders Company, p. 931-935, 2003.
- ¹¹ Guyton A., Hall John., Tratado de Fisiología Médica 10ª Edición, Mc Graw Hill Interamericana, p. 339, 2001.
- ¹² Ancizar Ortiz, E. Insuficiencia Renal Aguda, Guías de Urgencia, Fundación Panamericana de Asociaciones de Facultades y Escuelas de Medicina, Disponible en la World Wide Web en: www.fepafem.org.ve/Guias_de_Urgencias/Alteraciones_genitourinarias_y_ginecologicas/Insuficiencia_renal_aguda.pdf [Consultado el 15 de Abril del 2008]
- ¹³ Brady H, Brenner B, Acute Renal Failure In: AS Fauci, E Braunwald, DL Kasper, SL Hauser, DL Longo, JL Jameson, J Loscaizo (eds), Harrison's Principles of Internal Medicine, 17e. New York,
- ¹⁴ Downey P, Insuficiencia Renal Aguda, Apuntes de Medicina Intensiva, Pontificia Universidad Católica de Chile, Disponible en la World Wide Web en: <http://escuela.med.puc.cl/paginas/publicaciones/MedicinaIntensiva/InsufRenal.html> [consultado el 12 de abril de 2008].
- ¹⁵ A. Aguilar, Papel de los antioxidantes en la lesión por isquemia-reperfusión. .Estudio experimental de trasplante renal con donante a corazón parado. Disponible en: http://www.tesisenxarxa.net/TESIS_UB/AVAILABLE/TDX-0309105-090001//TESIS_A_AGUILAR.pdf
- ¹⁶ Weight S, Bell P, Nicholson M, Renal ischaemia-reperfusion injury, British Journal of Surgery, 83, 162-170, 1996.
- ¹⁷ San Cristobal, J., Cearra, I., Otero, B. et al. Capillary blood flow as an index of the therapeutic effect of folinic acid in ischemia-reperfusion syndrome. Rev. Esp. Enferm. dig. [online]., vol. 99, no. 1 [cited 2008-03-24], pp. 25-32. 2007, Disponible en la World Wide Web en:

http://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S113001082007000100006&lng=en&nr m=iso. ISSN 1130-0108. [consultado en 13 Junio 2008]

- ¹⁸ Granger DN, Rutili G, Mc Cord JM. "Superoxide radicals in feline intestinal ischemia" *Gastroenterology*; 81: 22-29, 1981.
- ¹⁹ Dominguez L, Gómez G, Síndrome de reperfusión en el paciente quirúrgico, *Universitas Médica*, vol. 46, N° 3, 2005.
- ²⁰ Li C, Jackson RM. Reactive species mechanisms of cellular hypoxia-reoxygenation injury. *Am J Physiol Cell Physiol* . 282(2):C227-41, 2002.
- ²¹ Becker LB. New concepts in reactive oxygen species and cardiovascular reperfusion physiology. *Cardiovasc Res*. Feb 15; 61(3):461-70, 2004.
- ²² Fernandez L., Heredia N., Grande L., y cols., Preconditioning protects liver and lung damage in rat liver transplantation: role of xanthine/xanthine oxidase, publicado en *Hepatology*, 36: 562-572, 2002.
- ²³ Jassem W., Roake J.A., et al. The molecular and cellular basis of reperfusion injury following organ transplantation. *Transplant Rev*; 12: 14, 1998.
- ²⁴ Yanisawa M, Kurihara H, Kimura S, et col. "A novel potent vasoconstrictor peptide produced by vascular endothelial cells". *Nature*; 323: 411-15, 1988.
- ²⁵ Wilhelm Sm, Simonson MS, Robinson AV, et col. "Endothelin up-regulation and localization following renal ischemia and reperfusion". *Kidney Int*; 55: 1011-1018,1999.
- ²⁶ Palmer RMJ, Ferrige AG, and moncada S. "Nitric oxide release accounts for the biological activity of endothelium-derived relaxing factor". **Nature**; 327:524-526, 1987.
- ²⁷ Galcerán J. M.^a, Radicales libres de oxígeno y nefroangioesclerosis, *Nefrología*. Vol. XX. Suplemento 1, 2000.
- ²⁸ Parik T, Allikmets K, Teesalu R y cols.: Oxidative stress and urinary albumin excretion in essential hypertension. *J Cardiovasc Risk* 3: 49-54, 1996.

-
- ²⁹ Hodis HN, Mack WJ, LaBree y cols., Serial coronary angiographic evidence that antioxidant vitamin intake reduces progression of coronary artery atherosclerosis. *JAMA* 273: 1849- 1854, 1995.
- ³⁰ Santos N, Figueira-Coelho J, Martins-Silva J, Saldanha C, Multidisciplinary utilization of dimethyl sulfoxide:pharmacological, cellular, and molecular aspects, *Biochemical Pharmacology* 65 1035–1041, 2003.
- ³¹ Kolb, K.H., Jaenicke, G., Kramer, M., Schulze, P.E. Absorption, distribution, and elimination of labeled dimethyl sulfoxide in man and animals. *Ann NY Acad Sci* 141:85-95, 1967.
- ³² Herschler, R., Jacob, S.W. The case of dimethyl sulfoxide. In: Lasagna, L. (Ed.), *Controversies in Therapeutics*. Philadelphia: W.B. Saunders, 1980.
- ³³ Evans, M.S., Reid, K.H., Sharp, J.B. Dimethyl sulfoxide (DMSO) blocks conduction in peripheral nerve C fibers: A possible mechanism of analgesia. *Neurosci Lett* 150:145-148, 1993.
- ³⁴ Percy, E.C., Carson, J.D. The use of DMSO in tennis elbow and rotator cuff tendinitis: A double-blind study. *Med Sci Sports Exercise* 13:215-219, 1981.
- ³⁵ Shirley, S.W., Stewart, B.H., Mirelman, S. Dimethyl sulfoxide in treatment of inflammatory genitourinary disorders. *Urology* 11:215-220, 1978.
- ³⁶ de la Torre, J.C., et al. Modifications of experimental spinal cord injuries using dimethyl sulfoxide. *Trans Am Neurol Assoc* 97:230, 1971.
- ³⁷ de la Torre, J.C., et al. Dimethyl sulfoxide in the treatment of experimental brain compression. *J Neurosurg* 38:343, 1972.
- ³⁸ de la Torre, J.C., et al. Dimethyl sulfoxide in the central nervous system trauma. *Ann NY Acad Sci* 243:362, 1975.
- ³⁹ Kolb, K.H., Janicke, G., Kramer, M., Schulze, P.E., and Raspe, G. Absorption, distribution and elimination of labeled dimethyl sulfoxide in man and animals. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 141: 85095, 1967.

-
- ⁴⁰ Roth, C.A. Effects of dimethyl sulfoxide on pedicle flap flow and survival. *J. Amer. Med. Women's Assoc.* 23: 895-898, 1968.
- ⁴¹ Deutsch, E., Beeinflussung der Blutgerinnung durch DMSO und Kombinationen mit Heparin, In "DMSO Symposium, Vienna, 1966" (G. Laudahn and K. Gertich, Eds.) pp.144-149. Saladruck, Berlin. 1966. Li C, Jackson RM. Reactive species mechanisms of cellular hypoxia-reoxygenation injury. *Am J Physiol Cell Physiol.* ; 282(2):C227-41, 2002.
- ⁴² Schiffer, C.A., Whitaker, C.I., Schmukler, M., Aisner, J., and Hibert, S.L. The effect of dimethyl sulfoxide on in vitro platelet function. *Thromb. Huemostasis* 36: 221-229, 1976.
- ⁴³ Clark, M.G., Gannon, B.J., Bodkin, N., Patten, G.S., and Berry, M.N. An improved procedure for high-yield preparation of intact beating heart cells from adult rat: Biochemical and moronologic study. *J. Mol. Cell. Cariol* 10: 1101-1121, 1978.
- ⁴⁴ Ruigrok, T.J.C., DeMoes, D., Slade, A.M., and Nayler, W.G. The effect of dimethyl sulfoxide on the calcium paradox. *Amer. J. Pathol.* 103: 390-403, 1981.
- ⁴⁵ Gries, G., Bublitz, G., and Lindner, J. The effect of dimethyl sulfoxide on the components of connective tissue (Clinical and experimental investigations). *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 141: 630-637, 1967.
- ⁴⁶ Scherbel, A.L., McCormack, L.J., and Poppo, M.J. Alterations of collagen in generalized scleroderma (progressive systemic sclerosis) after treatment with dimethyl sulfoxide. *Cleveland Clin. Q.* 32: 47-58, 1965.
- ⁴⁷ LeHann, T.R., and Horita, A. Effects of dimethyl sulfoxide (DMSO) on prostaglandin synthetase. *Proc. West Pharmacol. Soc.* 18: 81-82, 1975.
- ⁴⁸ Johnson, M. and Ramwell, P.W. Implications of prostaglandins in hematology. In "Prostaglandins and Cyclic AMP" (R.H. Kahn and W.E.M. Lands, Eds.) pp. 275-304. Academic Press, New York, 1974.
- ⁴⁹ Rao, C.V. Differential effects of detergents and dimethyl sulfoxide on membrane prostaglandin E, and F, receptors. *Life Sci.* 20: 2013-2022, 1977.

-
- ⁵⁰ Lefer, A.M. Role of the prostaglandin-thromboxane system in vascular homeostasis during shock. *Circ. Shock* 6: 297-303, 1979.
- ⁵¹ Brobyn, Richard. The Human Toxicology of Dimethyl Sulfoxide. [online]. Disponible en: <<http://www.dmsol.org/articles/information/brobyn.html>> [Visitado Septiembre 10 2008]
- ⁵² Gaylord Chemical Company, LLC, "Dimethyl Sulfoxide (DMSO) Health and Safety Information", Bulletin 106, Oct 2007, Disponible en la World Wide Web en: <http://www.gaylordchemical.com/bulletins/bulletin106b/Bulletin106B.pdf> [Consultado el 5 de Febrero del 2009].
- ⁵³ Jennette C, Olson J, Schwartz M, Silva F, Heptinstall's Pathology of the Kidney, 6th Edition, Lippincott Williams & Wilkins, 2007.
- ⁵⁴ Rubin E, Reisner H, Essentials of Rubin's Pathology, 5th Edition, Lippincott Williams & Wilkins, 2009.
- ⁵⁵ Baar M, Cleland Sally, Delaney K, Kilborn S, Kingman J, Ripley J, et al, CCAC Guidelines on: procurement of animals used in science, CCAC 2007. Disponible en la World Wide web en http://www.ccac.ca/en/CCAC_Programs/Guidelines_Policies/PDFs/Procurement_Guidelines_EN.pdf [consultado el 3 de abril de 2008].
- ⁵⁶ Consejo canadiense de Proteccion de Animales, Manual sobre el cuidado y el uso de animales de experimentación Vol.1, 1998, Disponible en la World Wide Web en : http://www.ccac.ca/en/CCAC_Programs/Guidelines_Policies/GUIDES/SPANISH/toc_v1.htm
- ⁵⁷ Standard Operating Procedures: Rabbit Anesthesia, Cornell University, 2006, Disponible en la world wide web en : <http://www.research.cornell.edu/care/documents/SOPs/CARE103.pdf> [consultado 7 de Marzo 2008]
- ⁵⁸ Unit for Laboratory Animal Medicine. University of Michigan. Anesthesia and Analgesia Guidelines: Rabbit. Disponible en la World Wide web en <http://www.ulam.umich.edu/sops/ULAM%20SOP%20Rabbit%20Anesthesia.doc> [consultado 4 de abril de 2008].

-
- ⁵⁹ American Veterinary Medical Association Guidelines on Euthanasia. Junio 2007 Disponible en la World Wide web en: http://www.avma.org/issues/animal_welfare/euthanasia.pdf [consultado el 3 de abril de 2008]
- ⁶⁰ Schrier RW, Wang W, Poole B, Mitra A. Acute renal failure: definitions, diagnosis, pathogenesis, and therapy. *J Clin Invest.* ; 114(1):5-14, 2004.
- ⁶¹ Torres A, C. Conde, M. Martín, J.A. González Fajardo, V. Gutiérrez, S. Carrera, C. Vaquero, Prevención del daño renal tras isquemia aguda mediante la administración de PGE1. Estudio morfométrico. *Angiología*; 53 (6): 381-392, 2001. Disponible en la World Wide Web: <http://www.angiologia.es/sec/busqueda.php#Inicio>
- ⁶³ Coskun Ý, Hüseyín G, The Effect of Dimethyl Sulphoxide (DMSO) After Reperfusion in Liver Ischemia (An Electron Microscopical Study), *T Klin J Med Sci*, 18:240-244, 1998.
- ⁶⁴ Farkas E, Institoris A, Domoki F, Mihaály A, Luiten P, Bari F, "Diazoxide and dimethyl sulphoxide Prevent Cerebral Hypoperfusion-Related Learning Dysfunction and Brain Damage After Carotid Artery Occlusion", *Brain Research* 1008, 252–260, 2004.
- ⁶⁵ Brady H, Brenner B, Acute Renal Failure In: AS Fauci, E Braunwald, DL Kasper, SL Hauser, DL Longo, JL Jameson, J Loscaizo (eds), *Harrison's Principles of Internal Medicine*, 17e. New York, McGraw-Hill, 2008. URL address of the online site (<http://www.accessmedicine.com>).
- ⁶⁶ Jo S, Hu X, Yuen P, Aslamkhan A, Ritchard J, Dear J, Star R, Delayed DMSO Administration Protects the Kidney from Mercuric Chloride-Induced Injury, *J Am Soc Nephrol* 15: 2648-2654, 2004
- ⁶⁷ Brady HR et al: Acute renal failure, in Brenner and Rector's *The Kidney*, 7th ed., BM Brenner (ed). Philadelphia, Saunders, 2004
- ⁶⁸ Thadhani R, Pascual M, Bonventre J, Acute Renal Failure, *N Engl J Med*, 334 (22): 1448 – 60, 1996.
- ⁶⁹ Quesenberry, *Manual clínico de Procedimiento en Pequeñas Especies* Birchard Scherding, 2da edición, editorial McGraw Hill Interamericana, pág. 1751 del volumen 2, 2002.