

DEPARTAMENTO DE FISIOLÓGÍA Y FARMACOLOGÍA



VNiVERSIDAD D SALAMANCA

TESIS DOCTORAL

**FACTORES DE PREDISPOSICIÓN AL DAÑO RENAL AGUDO
PRODUCIDO POR LOS ANTIINFLAMATORIOS NO
ESTEROIDEOS**

Omar Arístides Hidalgo Thomas

Salamanca, 1 de Julio de 2022

EL DOCTOR DON FRANCISCO J. LÓPEZ HERNÁNDEZ, EL DOCTOR DON J. CARLOS MARTÍNEZ SALGADO Y LA DOCTORA DOÑA ISABEL FUENTES CALVO, INVESTIGADORES DEL INSTITUTO DE INVESTIGACIÓN BIOMÉDICA DE SALAMANCA Y PROFESORES DE FISIOLÓGÍA DE LA UNIVERSIDAD DE SALAMANCA.

CERTIFICAN:

Que el presente trabajo, titulado “**Factores de predisposición al daño renal agudo producido por los antiinflamatorios no esteroideos**”, presentado por el Licenciado en Medicina **D. Omar Arístides Hidalgo Thomas** para optar al Grado de Doctor, ha sido realizado bajo su dirección en el Departamento de Fisiología y Farmacología de la Universidad de Salamanca, consideran que cumple las condiciones necesarias y autorizan su presentación con el fin de que pueda ser defendido ante el tribunal correspondiente.

Y para que así conste, expiden y firman el presente certificado en Salamanca, a 6 de mayo de 2022.


Fdo. Dr. D. Francisco J. López Hernández.


Fdo. Dr. D. J. Carlos Martínez Salgado.

Fdo. Dra. Dña. Isabel Fuentes Calvo.

Esta Tesis Doctoral ha sido financiada con una ayuda/contrato predoctoral de la Junta de Castilla y León y cofinanciada con el Fondo Social Europeo (EDU/ORDEN/574/2018)

Vosotros también, poniendo toda diligencia por esto mismo, añadid a vuestra fe virtud; a la virtud conocimiento; al conocimiento, dominio propio; al dominio propio, paciencia; a la paciencia, piedad; a la piedad, afecto fraternal; al afecto fraternal, amor.

2 Pedro 1:5-7

AGRADECIMIENTOS

AGRADECIMIENTOS

Quiero agradecer infinitamente a Dios por todo lo que hace en mí. La realización de esta tesis doctoral no hubiera sido posible sin su ayuda y sin la intervención de las muchas personas que Él ha puesto en mi camino, las cuales han sido de mucho apoyo.

A mi querida esposa Ángela, por el gran amor mostrado hacia mí, por animarme a lograr cada una de mis metas, por su apreciado cuidado y constante interés en mis proyectos. Quiero agradecer a mi querida abuela Rosa, que, aunque ya no está presente, junto a mi madre Bienvenida, siempre apostaron por mí apoyándome en todo. Así mismo, quiero agradecer a mis tíos, los cuales muchos de ellos se han comportado como padres durante muchos años, mostrando un cuidado especial por mí. Agradezco también a mis hermanas Eilyn y Niovel, que junto a mi padre Hipólito, han estado presentes estimulándome a seguir adelante.

A los demás familiares y por supuesto a mis hermanos de la iglesia evangélica Templo Bíblico Bayona y de la iglesia Calle Volta por el cuidado e interés mostrado; cuando se acercaban para saber cómo estaba y por mostrar su más sincera ayuda en cada una de las esferas de mi vida.

Mi especial agradecimiento al Dr. Francisco J. López Hernández, al Dr. Carlos Martínez Salgado y a la Dra. Isabel Fuentes Calvo, por haberme permitido formar parte de este grupo y participar en este proyecto de investigación. Gracias por la cercanía y amistad brindada; por sus sabios consejos, sugerencias y orientaciones durante este tiempo; quienes con tanto acierto y de una forma tan amena me han dirigido, porque sin su ayuda no hubiera logrado avanzar durante estos años, ni finalizar esta tesis con la grata experiencia de haber contado con excelentes directores.

Muchas gracias a todos mis compañeros del laboratorio S18, Sandra, María, Eva, Joana, Annette, Noelia, Anabel; así como a otros que ya no están, Yaremi, Marisan, Giampiero, Cristina, Ana, Andrea y Bart, con los cuales pude compartir buenos momentos durante toda mi estancia, de quienes pude recibir numerosos consejos que fueron de mucha ayuda.

No quiero dejar de agradecer a mis dos asturianas favoritas, Escarlata y Ana, por su incondicional amistad desde el máster, las cuales siempre han estado ahí para alegrar mi día y escucharme incondicionalmente. Gracias igualmente a todos aquellos que no puedo mencionar,

pero que de una manera muy especial entran en mi memoria, guardando buenos recuerdos que me hacen valorar su amistad.

¡Gracias a todos!

ÍNDICE

ÍNDICE	I
ÍNDICE DE FIGURAS.....	VI
ÍNDICE DE TABLAS	VIII
APÉNDICES DE ABREVIATURAS Y SIGLAS	IX
INTRODUCCIÓN	1
1. El sistema renal	2
1.1 El riñón	3
1.2 Las funciones del riñón.....	4
1.3 Estructura de la nefrona.....	5
1.3.1 El glomérulo.....	5
1.3.2 El aparato tubular	7
1.3.4 El aparato yuxtaglomerular.....	8
1.4 Procesos del riñón.....	8
1.4.1 Filtración glomerular	8
1.4.2 Reabsorción.....	11
1.4.3 Secreción.....	11
2. Hemodinámica renal	12
2.1 Función del aparato yuxtaglomerular	12
2.2 Sistema Renina-Angiotensina-Aldosterona.....	13
2.3 Autorregulación renal	17
2.3.1 Mecanismo miogénico	18
2.3.2 Retroalimentación tubuloglomerular	18
3. Regulación de la presión arterial.....	21
3.1 Control neurológico	22
3.2 Regulación hormonal.....	23

3.3	Control a largo plazo	25
4.	Daño renal agudo	26
4.1	Criterios diagnósticos	27
4.2	Epidemiología y costos.....	29
4.3	Clasificación	30
4.3.1	Daño renal agudo prerrenal	31
4.3.1	Daño renal agudo intrarrenal o parenquimatoso.....	34
4.3.2	Daño renal agudo postrenal	35
5.	Fármacos relacionados con el daño renal agudo.....	36
5.1	Antiinflamatorios no esteroideos.....	36
5.2	Principales fármacos antihipertensivos que actúan sobre el SRAA.....	39
5.2.1	Inhibidores de la enzima convertidora de angiotensina (IECAs).....	39
5.2.2	Antagonistas de los receptores de la angiotensina II (ARAII).....	40
5.2.3	Efectos de IECAs y ARAII sobre el sistema renal.....	41
5.3	Diuréticos.....	43
5.3.1	Efectos de los diuréticos sobre el sistema renal.....	44
6.	Factores que favorecen el daño renal agudo	47
6.1	Edad	47
6.2	Deshidratación	48
6.3	Otras comorbilidades	49
7.	Métodos diagnósticos del daño renal agudo	49
7.1	Estudio de la función renal	50
7.2	Estudios de imagen.....	52
7.3	Nuevas estrategias diagnósticas del DRA	53

OBJETIVOS	59
MATERIALES Y MÉTODOS	60
1. Modelo experimental	60
1.1 Mantenimiento de los animales	60
1.1.1 Manejo de los animales.....	60
1.2 Modelo animal.....	61
1.2.1 Modelo animal: Desarrollo de un modelo de DRA inducido por <i>Triple Whammy</i> en ratas SHR de 3 y 7 meses	61
1.2.1.1 Diseño experimental	61
1.2.1.2 Grupos experimentales	64
2. Técnicas experimentales <i>in vivo</i>	65
2.1 Recogida de orina de 24 horas: jaulas metabólicas	65
2.2 Control de la ingesta de agua.....	66
2.3 Recolección de muestras de sangre y obtención del plasma	67
2.4 Determinación de la presión arterial en la cola por esfigmomanometría	67
2.5 Obtención de muestras tisulares	69
2.6 Determinaciones bioquímicas.....	70
2.6.1 Creatinina en el plasma y en la orina y aclaramiento de creatinina.....	70
2.6.2 Determinación de la urea plasmática	71
2.6.3 Determinación de la concentración de proteínas en la orina	72
2.6.4 Determinación de la excreción urinaria de N-acetil-β-D-glucosaminidasa (NAG)....	73
.....	73
2.6.5 Determinación de la concentración de Na ⁺ en la orina y en el plasma.....	74
3. Identificación de proteínas mediante la técnica <i>Western blot</i>	76
3.1 Preparación de las muestras, electroforesis y transferencia	76
3.2 Bloqueo e incubación con los anticuerpos	79

3.3	Revelado	80
3.4	Normalización de datos	80
3.5.	Cuantificación.....	81
4.	Detección de biomarcadores por la técnica ELISA	81
5.	Análisis histológico.....	84
5.1	Tinción hematoxilina-eosina	84
6.	Análisis estadístico de los datos.....	87
7.	Relación de reactivos, materiales y equipos	87
RESULTADOS Y DISCUSIÓN		93
1.	Caracterización del modelo experimental animal de daño renal agudo	93
1.1	Evaluación de la presión arterial sistémica.....	94
1.2	Análisis del balance hídrico.....	96
1.3	Efecto de la deshidratación y la edad sobre la función renal.....	98
1.3.1	Análisis de la creatinina y urea plasmática	98
1.4	Estimación de la tasa de filtración glomerular	100
2.	Caracterización del tipo de daño renal agudo	103
2.1	Concentración de proteínas en la orina.....	103
2.2	Excreción fraccional de sodio.....	105
2.3	Caracterización histológica.....	107
2.4	Medida de marcadores urinarios para caracterizar el tipo de daño renal agudo.....	110
2.4.1	N-acetil-β-D-glucosaminidasa o NAG	111
2.4.2	Lipocalina asociada a la gelatinasa de neutrófilos o NGAL.....	112
2.4.3	Inhibidor del activador de plasminógeno o PAI-1	114
3.	Análisis de la red de regulación hemodinámica	117
3.1	Sistema Renina-Angiotensina-Aldosterona.....	117

3.1.1	Angiotensina I.....	117
3.1.2	Angiotensina II.....	118
3.1.3	Hormona antidiurética	120
3.1.4	Noradrenalina.....	121
	DISCUSIÓN GENERAL.....	124
	CONCLUSIONES	128
	CONCLUSIÓN PRIMERA	128
	CONCLUSIÓN SEGUNDA.....	128
	CONCLUSIÓN TERCERA	128
	REFERENCIAS.....	129

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Organización general del riñón y el sistema urinario.....	3
Figura 2. Parte de la nefrona y la circulación sanguínea.	6
Figura 3. Aparato yuxtaglomerular.....	8
Figura 4. Fuerzas que intervienen en la filtración glomerular.....	10
Figura 5. Resumen del Sistema Renina-Angiotensina-Aldosterona.....	16
Figura 6. Mecanismo de retroalimentación tubuloglomerular (RTG) durante la disminución de la PA renal.	20
Figura 7. Resumen integrado del control de la presión arterial.....	24
Figura 8. Mecanismo de autorregulación renal en la hipoperfusión renal.....	34
Figura 9. Fisiopatología del daño renal inducido por AINEs	38
Figura 10. Representación esquemática del modelo animal.....	63
Figura 11. Jaula metabólica	65
Figura 12. Equipo para la medida de la presión arterial	68
Figura 13. Imagen de la pantalla de registro de presión medida en la cola	69
Figura 14. Reacción de Jaffé.....	70
Figura 15. Potenciómetro para medir iones de Na ⁺	75
Figura 16. Representación esquemática de la técnica Western blot.....	78
Figura 17. Esquema representativo del ELISA tipo sándwich llevado a cabo en nuestro trabajo, en muestras de plasmas y orina.....	82
Figura 18. Imagen representativa de un corte longitudinal de un riñón de rata teñido con hematoxilina-eosina	85
Figura 19. Evolución de la creatinina plasmática en los diferentes grupos experimentales.....	99
Figura 20. Evolución de la urea plasmática en los diferentes grupos experimentales.....	100
Figura 21. Representación del aclaramiento de creatinina en los diferentes grupos experimentales	102
Figura 22. Representación de la excreción de proteínas en los diferentes grupos experimentales.	104
Figura 23. Imágenes representativas de cortes histológicos (200X) teñidos con hematoxilina-eosina procedentes de la corteza del grupo de ratas SHR de 7 meses en D6	107

Figura 24. Imágenes representativas de cortes histológicos (200X) teñidos con hematoxilina-eosina procedentes de la médula externa del grupo de ratas SHR de 7 meses en D6 108

Figura 25. Imágenes representativas de cortes histológicos (200X) teñidos con hematoxilina-eosina procedentes de la médula interna del grupo de ratas SHR de 7 meses en D6 109

Figura 26. Excreción urinaria de NAG 111

Figura 27. Excreción urinaria de NGAL..... 113

Figura 28. Imagen representativa de Western blot y cuantificación de PAI-1 115

Figura 29. Niveles plasmáticos de Angiotensina I..... 118

Figura 30. Niveles plasmáticos de Angiotensina II 120

Figura 31. Niveles plasmáticos de la hormona antidiurética (ADH)..... 121

Figura 32. Niveles plasmáticos de Noradrenalina. 122

Figura 33. Esquema de la relación entre la deshidratación, las comorbilidades y la fragilidad hemodinámica en el anciano 125

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Criterios de diagnóstico del daño renal agudo.....	28
Tabla 2. Causas de daño renal agudo.....	32
Tabla 3. Efectos de los fármacos antihipertensivos en los componentes del SRAA.....	42
Tabla 4. Diuréticos, sus indicaciones y efectos adversos.	46
Tabla 5. Parámetros de funcionalidad en el daño renal agudo.	52
Tabla 6. Resumen de los principales biomarcadores de daño renal	55
Tabla 7. Fármacos utilizados, vía de administración y dosis administrada.	62
Tabla 8. Relación de anticuerpo primario y secundario utilizados para Western blot.	79
Tabla 9. Relación de biomarcadores analizados por la técnica de ELISA.	83
Tabla 10. Valor numérico asociado a la característica evaluada del daño renal.....	86
Tabla 11. Relación de reactivos y productos utilizados.....	87
Tabla 12. Relación de equipos y aparatos utilizados.	90
Tabla 13. Programas informáticos utilizados.....	92
Tabla 14. Valores de la PAS y PAD de los diferentes grupos experimentales.....	95
Tabla 15. Evolución del balance hídrico de los diferentes grupos experimentales	97
Tabla 16. Representación de la excreción fraccional de sodio en los diferentes grupos experimentales	106

APÉNDICES DE ABREVIATURAS Y SIGLAS

4PL: *Four parametric logistic*.

ACTH: Hormona adrenocorticotropa.

ADH: Hormona antidiurética.

AINES: Antinflamatorios no esteroideos.

AKIN: *Acute kidney injury network*.

AngI: Angiotensina I.

AngII: Angiotensina II.

Ang 1-7: Angiotensina 1-7.

Ang 1-9: Angiotensina 1-9.

ANOVA: Test estadístico de análisis de la varianza.

APA: Aminopeptidasa A.

APN: Aminopeptidasa N.

ARAI: Antagonistas de los receptores de angiotensina II.

AT1: Receptor de angiotensina 1.

AT2: Receptor de angiotensina 2.

ATP: Adenosín trifosfato.

B: Basal.

BSA: Albúmina sérica bovina. (*bovine serum albumin*).

BUN: Nitrógeno ureico en sangre.

Ca²⁺: Ion calcio.

cAMP: Adenosín monofosfato cíclico.

cGMP: Guanosín monofosfato cíclico.

CKD-EPI: Enfermedad renal crónica-Colaboración epidemiológica (*Chronic Kidney Disease-Epidemiology Collaboration*).

Cl: Cloro.

ClCr: Aclaramiento de creatinina.

Co NAG: Concentración de NAG en la orina.

Cox: Ciclooxygenasa.

Cox-1: Ciclooxygenasa 1.

Cox-2: Ciclooxygenasa 2.

Cpo: Concentración de proteínas en la orina.

CrP: Creatinina plasmática.

CrU: Concentración de creatinina en orina.

CT: Grupo control.

CT + DES: Grupo control + deshidratación.

CYP11B2: Aldosterona sintetasa.

C+: Control positivo.

D1-D6: Día 1-Día 6.

DES: Deshidratación.

DM: Diabetes Mellitus.

DRA: Daño renal agudo.

DRAP: Aminopeptidasa regulada por insulina.

ECA: Enzima convertidora de angiotensina.

ECA2: Enzima 2 convertidora de angiotensina.

ECL: Solución extrema aumentada de la quimioluminiscencia.

EEM: Error estándar de la media.

EFNa: Excreción fraccional de Na⁺.

EGFR: Receptor del factor de crecimiento epidérmico.

ELISA: Ensayo por inmunoabsorción ligado a enzimas (*enzyme-linked immunosorbent assay*).

ERC: Enfermedad renal crónica.

FDA: Administración de Alimentos y Medicamentos.

FG: Filtrado glomerular.

FNkB: Factor nuclear kappa B.

FU: Flujo urinario.

G: Calibre de la aguja.

HTA: Hipertensión arterial.

HRP: Enzima peroxidasa de rábano picante (*horseradish peroxidase*).

IC: Insuficiencia cardíaca.

IECAs: Inhibidores de la enzima convertidora de angiotensina.

IFR: Índice de fallo renal.

IGFBP7: Factor de crecimiento insulínico tipo 7.

IgG: Inmunoglobulina.

IL-6: Interleucina 6.

IL-18: Interleucina 18.

IP: Vía intraperitoneal.

ISE: *Ion-selective-electrode*.

I/R: Isquemia-reperfusión.

K⁺: Ion potasio.

KDa: Kilodalton.

KDIGO: *Kidney disease: improving global outcomes*.

Kf: Coeficiente de filtración capilar.

KIM-1: Molécula de daño renal.

LDH: Lactato deshidrogenasa.

L-FAB-1: Proteína hepática fijadora de ácidos grasos.

lpm: latidos por minuto.

MDRD: Modificación de la dieta en la enfermedad renal (*Modification of Diet in Renal Disease*).

Mg²⁺: Ion magnesio.

MMP-9: Metaloproteinasa-9 de matriz.

MNP-GlcNac: 2-metoxi-4-(2'nitovinil)-fenil 2 acetamida-2-deoxi-β-D-glucopiranosido.

MR: Receptor mineralocorticoide.

NA: Noradrenalina.

Na⁺: Ion sodio.

NaCl: Cloruro de sodio.

NAG: N-acetil-β-D-glucosaminidasa.

Nao: Na⁺ en orina.

NaP: Concentración de Na⁺ en el plasma.

NaU: Concentración de Na⁺ en orina.

NED: N-naptileno diamida.

NGAL: Lipocalina asociada a gelatinasa de neutrófilos.

NHE2: Intercambiador de sodio-hidrógeno tipo 2.

NIBP: *Non-Invasive Blood Pressure*.

NKCC2: Cotransportador de Cl⁻- Na⁺-K⁺.

NTA: Necrosis tubular aguda.

NTIA: Nefritis tubulointerstitial aguda.

OD: Densidad óptica.

OMS: Organización Mundial de la Salud.

ON: Óxido nítrico.

o/n: Overnight.

OPA: Ortoftalaldehído.

PA: Presión arterial.

PAD: Presión arterial diastólica.

PAI-1: Inhibidor del activador del plasminógeno.

PAM: Presión arterial media.

PAS: Presión arterial sistólica.

PB: Presión hidrostática de la capsula de Bowman.

PBS: Tampón fosfato salino.

PCR: Reacción en cadena de la polimerasa.

PG: Presión hidrostática glomerular.

PGs: Prostaglandinas.

PGE1: Prostaglandina E1.

PGE2: Prostaglandina E2.

PGI1: Prostaglandina I1.

PGI2: Prostaglandina I2.

PNA: Péptido natriurético atrial.

PNB: Péptido natriurético cerebral.

PTI: Púrpura trombocitopénica idiopática.

PVDF: *Polyvinylidene difluoride.*

RIFLE: Criterio para diagnóstico de DRA, del inglés *risk, injury, failure, loss, end-stage renal disease*.

RMN: Resonancia magnética nuclear.

RT: Temperatura ambiente.

RTG: Retroalimentación tubuloglomerular.

SDS: Dodecil sulfato sódico.

SDS-PAGE: *Sodium dodecyl sulfate polyacrylamide gel electrophoresis*.

SEA: Servicio de Experimentación Animal.

SHR: Ratas espontáneamente hipertensas.

SHU: Síndrome hemolítico urémico.

SIADH: Síndrome de secreción inadecuada de hormona antidiurética.

SNA: Sistema nervioso autónomo.

SNP: Sistema nervioso parasimpático.

SNS: Sistema nervioso simpático.

SRAA: Sistema-Renina-Angiotensina-Aldosterona.

TFG: Tasa de filtración glomerular.

TFGe: Tasa de filtración glomerular estimada.

TMB: 3,3',5,5'-tetrametilbencidina.

TIMP-2: Inhibidor tisular de metaloproteinasas.

TP: Tiempo de protrombina.

TW: Triple Whammy.

TW+ DES: Triple Whammy + deshidratación.

t-PA: Plasminógeno.

uPA: Uroquinasa.

UU. AA: Unidades arbitrarias.

UU. II: Unidades Internacionales.

V2: Receptor vascular de vasopresina (ADH).

π B: Proteínas de la cápsula de Bowman.

π G: Presión coloidosmótica de las proteínas plasmáticas en el capilar glomerular.

INTRODUCCIÓN

INTRODUCCIÓN

La hipertensión arterial (HTA) es una enfermedad compleja (Marx, 1976) causada por la combinación de factores genéticos y ambientales, muy relacionados con el estilo de vida, que en su gran mayoría no han sido identificados (Liu y cols., 2016; Won y cols., 2011). La HTA según la OMS tiene una prevalencia del 40 % en mayores de 25 años. Por otro lado, el dolor es una fuerte limitación de la calidad de vida y de la capacidad de trabajo y, en muchas circunstancias, el tratamiento de la HTA coexiste con tratamientos agudos o crónicos para el dolor (artritis, trauma, cirugía). Los tratamientos más utilizados en el mundo para el control de la HTA son los diuréticos, los inhibidores de la enzima convertidora de angiotensina (IECAs) y los antagonistas de los receptores de angiotensina II (ARAI), los cuales suelen coincidir con los antiinflamatorios no esteroideos (AINEs), muy usados para el tratamiento del dolor. Además, la mayoría de los pacientes requieren más de un medicamento para controlar la HTA. Esto lleva a introducir en la pauta médica un segundo o tercer medicamento de un grupo farmacológico diferente a dosis bajas ya que puede mejorar significativamente la presión arterial (PA) y reducir los efectos adversos, en comparación con el aumento de la dosis de un solo medicamento (Mancia y cols., 2007, 2013).

Por lo tanto, es frecuente observar terapias antihipertensivas dobles o triples, con tratamiento analgésico crónico o agudo al mismo tiempo. Pero el uso y eficacia de estas combinaciones están significativamente afectados por su efecto secundario principal, la nefrotoxicidad, que causa un síndrome grave, el daño renal agudo (DRA), debido a que inhibe al mismo tiempo varios de los mecanismos de regulación de los que dispone el organismo para mantener la filtración glomerular. El riesgo de DRA prerrenal asociado al uso de IECAs, ARAII, diuréticos y AINEs aumenta (hasta el 30 %) cuando dos o más de estos fármacos se utilizan simultáneamente. Desafortunadamente, el DRA ocurre en una fracción significativa de pacientes tratados con estos fármacos (hasta el 22 %), (Lapi y cols., 2013; Prieto-García y cols., 2016).

El DRA es un síndrome de gran transcendencia socioeconómica y clínica. Se caracteriza por una pérdida de la función renal, de forma que la sangre no puede depurarse correctamente de los productos de desecho y metabolitos tóxicos, que se acumulan en la sangre y causan graves alteraciones en muchos órganos y tejidos hasta causar la muerte del paciente, si no se toman las

medidas adecuadas (Mehta y cols, 2007). La alteración central en el DRA es la disminución de la tasa de filtración glomerular (TFG), que produce una elevada morbilidad aguda, y con consecuencias deletéreas para la salud y la supervivencia a medio y largo plazo, que ocasionan un gasto económico directo importante para los sistemas de salud (Chertow y cols., 2005). En su conjunto, el DRA supone el 1 % del gasto sanitario total (Bates y cols., 2001), y si se diagnostica tarde y tiene como tratamiento la diálisis, los costes son más elevados (Schiffl y Lang, 2012). En algunas poblaciones, como los enfermos en estado crítico o en unidades de cuidados intensivos, el DRA es un síndrome gravísimo, que produce la muerte en el 50-80 % de los casos (Block y Schoolwerth, 2006; Kellum y Hoste, 2008; Schiffl y Lang, 2012; Waikar y cols., 2008). Su incidencia aumenta a una tasa del 10 % anual (Siew y Himmelfarb, 2013). En la mayoría de los pacientes al retirar a tiempo la causa que lo produce, el daño renal se revierte y la función renal se normaliza (Schiffl, 2006). En algunos casos es necesario utilizar la diálisis para lograr la recuperación de los riñones, pero en otros pacientes la función renal queda alterada de forma crónica o puede evolucionar hacia una enfermedad renal crónica (ERC), progresiva o irreversible, la cual se asocia con mayor morbilidad cardiovascular y con elevado coste socioeconómico (López-Novoa y cols., 2010; Schiffl, 2006).

Por lo tanto, el problema que surge como consecuencia de la combinación de estas terapias es la incapacidad de determinar el efecto terapéutico, y la susceptibilidad individual a los efectos secundarios en cada paciente, antes del tratamiento. Por lo cual, es necesario conocer previamente el riesgo de sufrir un DRA al cual se exponen los pacientes que usarán diferentes dosis de IECAs, ARAII, AINEs y diuréticos para poder ajustar las terapias de forma progresiva y personalizada.

1. El sistema renal

El sistema urinario está formado por los riñones, los uréteres, la vejiga y la uretra. El riñón es un órgano par que se encuentra detrás del peritoneo, a cada lado de la columna vertebral. Está altamente especializado para regular el volumen y la composición química de los fluidos corporales a través del intercambio entre el interior y el exterior del cuerpo, cooperando para mantener constante su composición interna. Al llevar a cabo esta función, excretan la mayoría de los productos de desecho solubles en la orina. La orina formada por el riñón drena en la pelvis

renal, y continúa su recorrido por los uréteres que unen al riñón con la vejiga. En la vejiga la orina es almacenada y posteriormente excretada por la compresión de su musculatura, saliendo a través de la uretra, la última porción del tracto urinario (Cavagna, 2019; Chalmers, 2019; Field y cols., 2010c).

1.1 El riñón

Cada riñón pesa entre 115 y 170 gramos, posee unas dimensiones de 11 cm de largo, 6 cm de ancho y 3 cm de grosor. El lado medial de cada riñón contiene una muesca a través de la cual pasa la arteria y la vena renal, los nervios y la pelvis. El riñón posee dos regiones: una región externa llamada corteza y una región interna llamada médula. La corteza y la médula están compuestas por las nefronas (la unidad funcional del riñón), los vasos sanguíneos, los vasos linfáticos y los nervios. La corteza externa está cubierta por una cápsula fibrosa y todo el riñón está rodeado por una almohadilla de grasa que ofrece cierta protección contra lesiones. En términos generales, la corteza contiene los componentes de filtración y reabsorción de las nefronas, y la médula posee los componentes para la concentración y dilución, además de los túbulos colectores. La médula se divide en masas cónicas llamadas pirámides renales. La base de cada pirámide se origina en el borde cortico-medular, y su ápice termina en una papila, que yace dentro de un cáliz menor. A su vez los cálices menores recolectan la orina de cada papila y de esta forma los cálices menores se expanden en dos o tres bolsas abiertas, formando los cálices principales los cuales se fusionan formando la pelvis renal (Chalmers, 2019; Koeppen y Stanton, 2013).

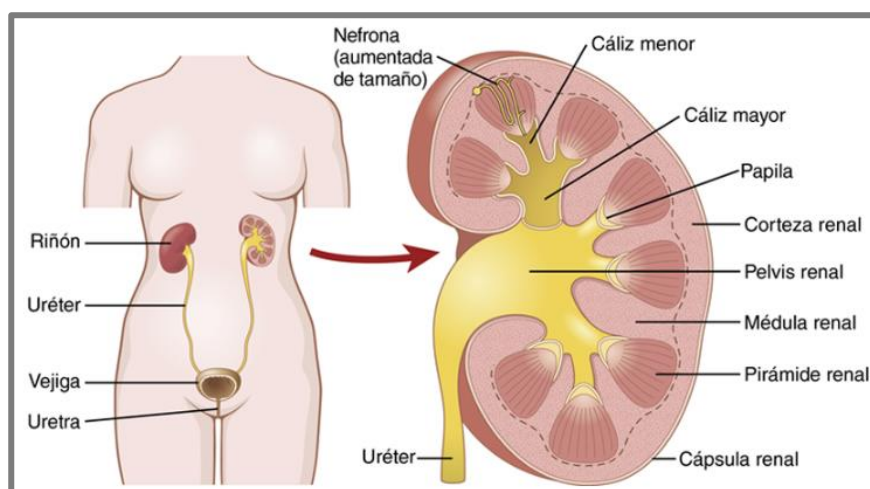


Figura 1. Organización general del riñón y el sistema urinario. (Hull, 2016)

1.2 Las funciones del riñón

El riñón posee numerosas funciones, que se pueden englobar dentro de los siguientes grupos: función excretora, función reguladora y función metabólica.

Excretora: el riñón se encarga de la excreción de productos metabólicos de desecho, como sustancias químicas y numerosos compuestos. Entre los principales productos podemos encontrar: la urea, la creatinina, el ácido úrico, la bilirrubina, y los metabolitos de varias hormonas. Además, por medio del riñón se eliminan las toxinas y sustancias que ingerimos como son los pesticidas, los fármacos y los productos adictivos usados en los alimentos (Chalmers, 2019; Hall, 2016).

Reguladora: dentro de estas funciones se encuentran la regulación del equilibrio hídrico y electrolítico, necesario para el mantenimiento de la homeostasis. Así que, el riñón es capaz de controlar los desequilibrios cíclicos transitorios de agua y electrolitos, en las diferentes circunstancias fisiológicas y fisiopatológicas. Además, los riñones intervienen de manera directa en la regulación de la PA a largo plazo al favorecer la excreción de agua y sodio (Na^+), y a corto plazo al liberar sustancias vasoactivas por medio de la regulación hormonal (Chalmers, 2019; Hall, 2016; Murray y Paolini, 2020). Los riñones contribuyen a la regulación del equilibrio ácido-base, eliminando sustancias como el ácido sulfúrico, el ácido fosfórico, además de intervenir en la liberación de sustancias amortiguadoras en el líquido corporal, jugando un papel importante en la homeostasis del organismo al regular el pH del plasma (Field y cols., 2010a).

Metabólica: la hipoxia estimula la secreción de eritropoyetina por el riñón, la cual es capaz de estimular la producción de eritrocitos en la médula ósea. El riñón es el órgano que más influye en la cantidad de eritropoyetina que se secreta a la circulación. De igual manera, el riñón se encarga de activar la vitamina D (1,25-dihidroxitamina D_3) (calcitriol), influyendo de este modo en la regulación del calcio (Ca^{2+}). Además, sintetiza glucosa a partir de aminoácidos y otros metabolitos durante el ayuno prolongado (Chalmers, 2019; Hall, 2016).

1.3 Estructura de la nefrona

La nefrona es la unidad funcional de los riñones. Cada riñón humano contiene aproximadamente 1,2 millones de nefronas, que son tubos huecos formados por una sola capa celular. La estructura única de la nefrona está relacionada principalmente con funciones complejas y contiene cinco componentes para llevarlas a cabo: un corpúsculo renal, un túbulo proximal, un asa de Henle, un túbulo distal y un sistema de conductos colectores. A su vez, el corpúsculo renal está formado por una red de capilares glomerulares y la cápsula de Bowman. El túbulo proximal forma inicialmente varias circunvalaciones, seguido de una pieza recta que desciende hacia la médula. El siguiente segmento es el asa de Henle, que se conecta con la parte recta del túbulo proximal y posee una extremidad delgada descendente que termina en una curva cerrada, continuando con una extremidad ascendente con dos porciones diferenciadas, una delgada y otra gruesa. Cerca del final de la rama gruesa ascendente del asa de Henle, la nefrona pasa entre la arteriola aferente y eferente de la misma nefrona. Este segmento corto de la rama gruesa ascendente que toca el glomérulo se llama mácula densa. Continuamente al asa de Henle encontramos el túbulo distal, que recorre una corta distancia más allá de la mácula densa y se extiende hasta la corteza donde dos o más nefronas se unen para formar el túbulo colector cortical. Este túbulo colector cortical ingresa a la médula y se convierte en el túbulo colector medular externo y luego en el túbulo colector medular interno (Cavagna, 2019; Chalmers, 2019; Koeppen y Stanton, 2013).

1.3.1 El glomérulo

El glomérulo es la estructura histológica del riñón encargada de la filtración, que se encuentra en la corteza renal. Está formado por una red de capilares procedentes de la arteriola aferente, que acaba uniéndose con la arteriola eferente y la cápsula de Bowman. El proceso de filtración se realiza por medio del endotelio capilar glomerular fenestrado, la membrana basal glomerular y los procesos del pie de los podocitos (Koeppen y Stanton, 2013; Murray y Paolini, 2020; White, 2012).

Cápsula de Bowman: está formado por dos capas, la capa visceral y la parietal. La capa visceral es interna y rodea completamente los capilares glomerulares y se compone de células

epiteliales estrelladas especializadas denominadas podocitos. Por otra parte, la capa externa o parietal de la cápsula de Bowman es una capa única de epitelio escamoso simple. Estas dos capas forman entre ellas el Espacio de Bowman, en el cual se filtra la orina (Chalmers, 2019; Koeppen y Stanton, 2013; White, 2012).

La membrana basal glomerular: posee un grosor de 240 a 270 nm, está fusionada con las células endoteliales y los podocitos, y ofrece apoyo a los capilares glomerulares. Su composición principal es el colágeno tipo IV, pero contiene otras proteínas como laminina, heparán sulfato, glucoproteínas y los proteoglicanos agrina y perlecan (Lemos y cols., 2016; Scott y Quaggin, 2015). Posee una estructura en forma de malla y por medio de las cargas negativas forman un tamiz molecular o barrera, evitando que las proteínas como la albúmina y la globulina (anticuerpos) salgan de la circulación (White, 2012).

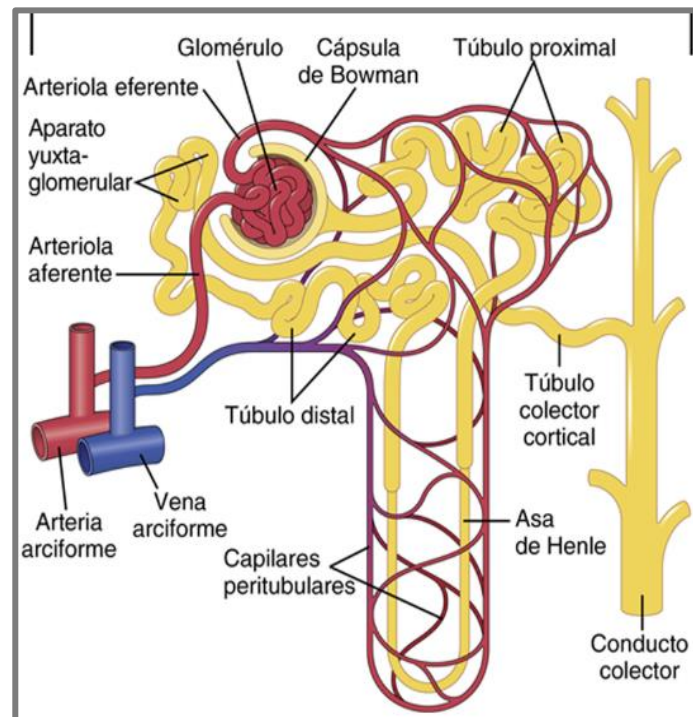


Figura 2. Parte de la nefrona y la circulación sanguínea. (Hall, 2016)

Los podocitos sirven como soporte de los capilares glomerulares y son parte de la barrera de filtración glomerular. Son células grandes con núcleos eucromáticos y forman la capa visceral de la cápsula de Bowman con exposición al espacio urinario. Por último, están las células mesangiales encargadas del soporte de los capilares glomerulares. Las células intraglomerulares sostienen físicamente los capilares glomerulares y ocupan los espacios intercelulares debajo de la membrana basal. Así mismo, tanto las células mesangiales como su matriz extracelular secretada, se denominan colectivamente mesangio. Estas células mesangiales también tienen función contráctil y fagocítica (Murray y Paolini, 2020; White, 2012).

1.3.2 El aparato tubular

Los túbulos proximales representan gran parte de la masa renal y poseen una tasa metabólica alta dentro de las células que componen el riñón. Su principal función es la reabsorción, debido a su alta permeabilidad al agua, reabsorbiendo aproximadamente el 65% del Na^+ contenido en el filtrado glomerular (FG), (Chalmers, 2019; Field y cols., 2010b; Ogobuiro y Tuma, 2020). A continuación, encontramos el asa de Henle donde ocurre principalmente la concentración y dilución de la orina. Las células de la porción descendente del asa de Henle actúan como equilibrio pasivo en el proceso de contracorriente y el segmento grueso ascendente es responsable de la concentración final de la orina (Chalmers, 2019; Field y cols., 2010b). Después tenemos el túbulo distal que posee un transporte de Na^+ activo primario en la membrana basolateral y un transporte activo secundario de $\text{Na}^+\text{-Cl}^-$ en la membrana apical, que actúan por la acción de la aldosterona en la porción distal del túbulo y se caracteriza por su poca permeabilidad al agua. (Field y cols., 2010b; Ogobuiro y Tuma, 2020). Justo después del túbulo distal continua el túbulo colector, donde ocurre la etapa final de la reabsorción. En esta porción encontramos diferentes formas de transportes que incluyen: el transporte activo primario de Na^+ en la membrana basolateral, el transporte activo secundario en la membrana apical a través de los canales $\text{Na}^+\text{-Cl}^-$ regulados por la aldosterona, el transporte pasivo de Ca^{2+} a través de canales modulados por la hormona paratiroidea en la membrana apical, así como el transporte activo primario y secundario en la membrana basolateral. (Field y cols., 2010b; Ogobuiro y Tuma, 2020; Roy y cols., 2015).

1.3.4 El aparato yuxtaglomerular

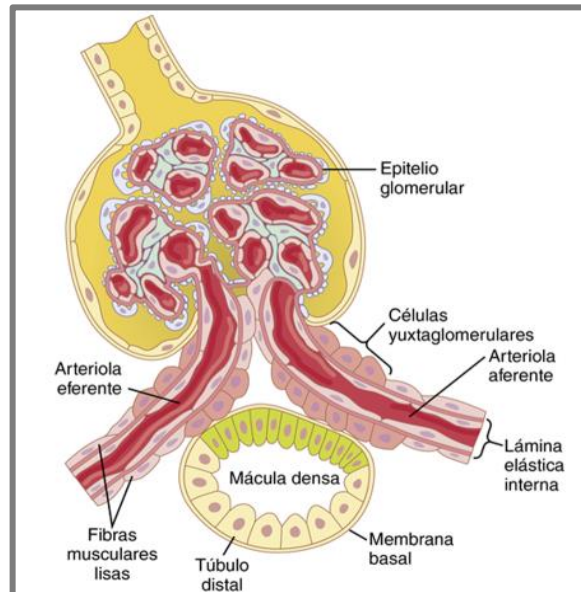


Figura 3. Aparato yuxtaglomerular (Hall, 2016)

El aparato yuxtaglomerular es un componente importante de la nefrona ubicado en la entrada de los capilares glomerulares, que participa en el mecanismo de retroalimentación tubuloglomerular (RTG), modificando el FG, a través del mecanismo de retroalimentación de la arteriola aferente y de la arteriola eferente. Está formado por las células de la mácula densa, las células yuxtaglomerulares y las células del lacis. (Friis y cols., 2013; Hall, 2016; Koeppen y Stanton, 2013; Murray y Paolini, 2020; Scott y Quaggin, 2015). Las funciones y sus implicaciones sobre la hemodinámica renal serán explicadas más adelante.

1.4 Procesos del riñón

1.4.1 Filtración glomerular

La filtración glomerular es el primer proceso para la producción de la orina. Se realiza mediante el paso de gran cantidad de líquido específicamente por los glomérulos mediante un proceso pasivo, en el que la presión hidrostática empuja el fluido y el soluto a través de una membrana. El proceso de filtración puede verse afectado por el incremento o la disminución del

flujo sanguíneo, el cual es regulado por el mecanismo miogénico y la RGT que compensan estos cambios. La membrana que realiza la filtración tiene tres capas: el endotelio fenestrado de los capilares glomerulares que permiten el paso de los componentes sanguíneos, excepto las células; la membrana basal, una barrera física con carga negativa que evita que las proteínas penetren; y el proceso del pie de los podocitos de la cápsula glomerular que crea una filtración más selectiva. Por otra parte, el FG está compuesto por concentraciones de sales, y moléculas orgánicas que son similares a las encontradas en el plasma. En cambio, la cantidad de proteínas, elementos celulares y de eritrocitos son casi inexistentes, así mismo, el Ca^{2+} y los ácidos grasos no suelen filtrarse al estar unidos a proteínas plasmáticas (Bhaskar y Oommen, 2018; Chalmers, 2019; Field y cols., 2010b; Hall, 2016; Ogobuiro y Tuma, 2020; Scott y Quaggin, 2015).

Sin embargo, llamamos FG al volumen de fluido filtrado en un minuto, el cual depende del equilibrio entre las fuerzas que actúan en el glomérulo, y el coeficiente de ultrafiltración capilar (K_f), que depende del área de superficie total disponible para la filtración en los capilares, multiplicado por la permeabilidad de la membrana de filtración. En un adulto el FG normal está entre 120 y 125 mL/min o 180 L/día. La fracción del flujo plasmático que se filtra es aproximadamente 0,2, lo cual quiere decir que se filtra el 20 % del plasma que pasa por los riñones (Hall, 2016).

Igualmente existen diferentes presiones que favorecen o se oponen al proceso de filtración glomerular. Dentro de las fuerzas que favorecen el proceso de filtración glomerular encontramos: la presión hidrostática dentro los capilares glomerulares (presión hidrostática glomerular, P_G) que es la principal fuerza de filtración con un valor de 60 mmHg; además de la presión coloidosmótica de las proteínas de la cápsula de Bowman (π_B) cuyo valor aproximado es 0 mmHg. Por su parte, las fuerzas que se oponen a la filtración glomerular son: la presión hidrostática de la capsula de Bowman (P_B) fuera de los capilares y la presión coloidosmótica de las proteínas plasmáticas en el capilar glomerular (π_G) (Chalmers, 2019; Field y cols., 2010b; Hall, 2016; Ogobuiro y Tuma, 2020).

Por lo tanto, los determinantes de la filtración glomerular son la suma de las fuerzas hidrostáticas y coloidosmóticas que dan lugar a la presión de filtración neta y al coeficiente de filtración glomerular, que se expresa en la siguiente fórmula:

$$\text{Filtración Glomerular (FG)} = K_f \times (\text{PG} - \text{PB} - \pi_G + \pi_b)$$

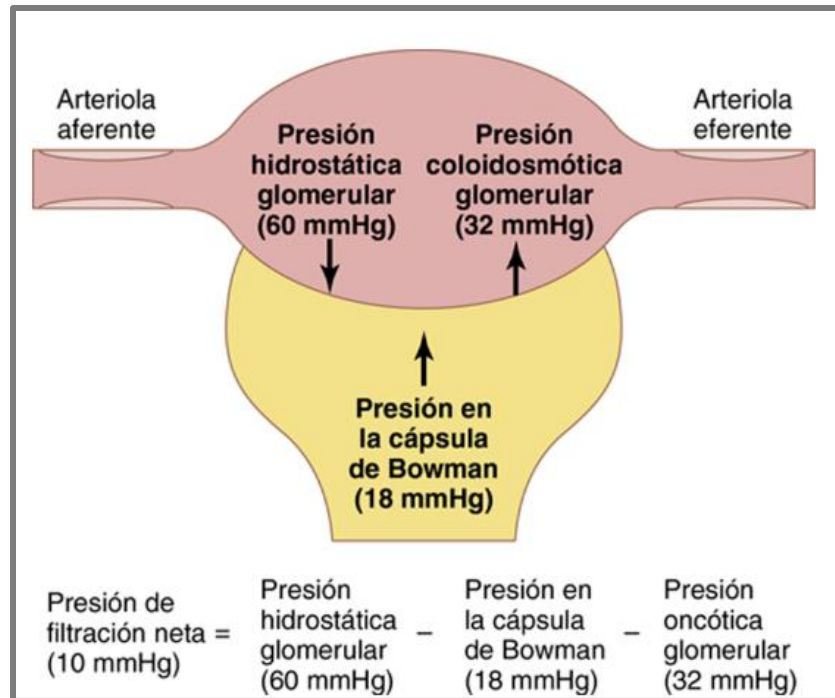


Figura 4. Fuerzas que intervienen en la filtración glomerular (Hall, 2016)

Los cambios en la presión hidrostática glomerular son los más importantes, puesto que inciden directamente en la regulación fisiológica del FG. La presión hidrostática depende directamente de tres variables: de la PA, de la resistencia arteriolar aferente y de la resistencia arteriolar eferente (esto dos últimos componentes conforman el mecanismo especial de RTG). La PA regula el FG, pues cuando se eleva la PA, también aumenta la presión hidrostática glomerular favoreciendo el aumento del FG. Sin embargo, frente a las fluctuaciones de la PA, la autorregulación renal (por medio de la RTG) mantiene la presión glomerular relativamente constante permitiendo regular el flujo renal y el FG en paralelo, impidiendo grandes cambios o alteraciones bruscas en estos (Hall, 2016).

1.4.2 Reabsorción

La reabsorción es un proceso que implica el movimiento de agua y sustancias desde el líquido tubular filtrado hacia el torrente sanguíneo. Es un proceso selectivo regulado, donde intervienen mecanismos de transporte activo y pasivo. Cualquier sustancia no reabsorbida pasará en la orina hacia la vejiga y será excretada del cuerpo. Los principales sitios de reabsorción son el túbulo proximal y el distal (Hall, 2016; Ogobuiro y Tuma, 2020). Cada segmento tubular posee diferentes propiedades reabsorbentes. Las células del túbulo proximal tienen la mayor capacidad de reabsorción. En circunstancias normales se reabsorbe toda la glucosa y los aminoácidos, así como el 65 % de Na^+ y agua. Los iones de Na^+ son reabsorbidos mediante transporte activo primario a través de una bomba de $\text{Na}^+\text{-K}^+$ basolateral y en esta porción se lleva a cabo la reabsorción de urea por difusión pasiva. Los productos filtrados no reabsorbidos en el túbulo proximal pasan al asa de Henle, en su porción descendente reabsorbe el agua por ósmosis. Este proceso es posible debido a la abundancia de acuaporinas. Después, en la porción delgada ascendente, el Na^+ se mueve pasivamente por su gradiente de concentración. Igualmente, el Na^+ , el K^+ y el Cl^- se reabsorben juntos a través de un simportador en el segmento grueso ascendente y en menor cantidad iones de Ca^{2+} , bicarbonato y Mg^{2+} . A continuación, encontramos el túbulo distal que mediante un transporte de Na^+ activo primario y secundario, lleva a cabo funciones parecidas a la porción ascendente del asa de Henle, reabsorbiendo: K^+ , Na^+ , Ca^{2+} , Cl^- , pero no urea ni agua; lo que le constituye como la porción diluyente. Finalmente, el túbulo colector es la última sección donde ocurre la reabsorción, el cual posee características similares a la primera porción del túbulo distal. En su porción medular lleva a cabo funciones tales como: reducir el volumen de orina, concentrar los solutos mediante la acción de la hormona antidiurética (ADH), y favorecer la reabsorción de urea; para finalmente producir una orina más concentrada (Chalmers, 2019; Hall, 2016; Ogobuiro y Tuma, 2020).

1.4.3 Secreción

La secreción es el proceso opuesto a la reabsorción y ocurre tanto en los túbulos proximales como en los distales. Este proceso involucra el movimiento de sustancias desde la sangre que fluye

a través de los capilares peritubulares hacia el líquido tubular. Las sustancias se secretan a través de las células de la pared del túbulo, y dentro de este grupo de sustancias encontramos: los medicamentos, los metabolitos que se unen a proteínas plasmáticas, amoníaco, ácidos orgánicos y básicos, y otras sustancias que fueron reabsorbidas pasivamente como la urea y el ácido úrico. También se secreta un 20 % de creatinina, que se añade a la filtrada libremente en el glomérulo. Por medio de la secreción tubular, se elimina el exceso de K^+ a través de la regulación de la hormona aldosterona en el túbulo distal y el túbulo colector. También se eliminan iones de hidrógeno cuando el pH de la sangre cae por debajo del rango normal. Posteriormente, cuando el pH de la sangre aumenta, se produce la reabsorción de Cl^- a medida que se excreta el bicarbonato. Finalmente, las sustancias secretadas se eliminan en la orina (Chalmers, 2019; Ogobuiro y Tuma, 2020; Suchy-Dicey y cols., 2016).

2. Hemodinámica renal

La TFG debe mantenerse constante para que el riñón realice sus funciones de forma adecuada y por ello la hemodinámica renal es un elemento importante, fundamentalmente en la filtración. Los mecanismos de regulación sistémica de la PA los cuales actúan sobre la resistencia vascular periférica y la volemia, condicionan la hemodinámica renal. Las oscilaciones que sufre la PA son reguladas de forma que no afectan la TFG y esta se mantiene constante a pesar de los distintos estímulos y circunstancias. De esta forma el riñón tiene diferentes mecanismos que le permiten mantener la TFG constantes a pesar de las variaciones de la PA: el aparato yuxtaglomerular, el sistema renina-angiotensina-aldosterona (SRAA), el mecanismo miogénico, y el mecanismo de RTG.

2.1 Función del aparato yuxtaglomerular

Los diferentes componentes del aparato yuxtaglomerular intervienen en la regulación de la red hemodinámica tanto sistémica como renal, ya que participan en la RTG y en la autorregulación del FG. Dentro de estos componentes se encuentra la mácula densa, un grupo especializado de

células epiteliales ubicadas en el túbulo distal, muy relacionadas con las arteriolas aferentes y eferentes (Hall, 2016; Murray y Paolini, 2020), que parecen interactuar con la adenosina, el óxido nítrico (ON) y las prostaglandinas (PGs), y son objeto de estudio como posibles mediadores en las señales producidas entre los diferentes componentes del aparato yuxtaglomerular (Cangiotti y cols., 2018; Friis y cols., 2013). La mácula densa es capaz de detectar los cambios en la concentración de Na^+ que llega al túbulo distal. Se cree que una reducción del FG disminuye el flujo que llega a la porción ascendente del asa de Henle, y favorece la reabsorción de Na^+ y Cl^- , produciendo una disminución del cloruro de Na^+ (NaCl) que llega a la mácula densa, provocando los siguientes efectos: una reducción de la resistencia al flujo sanguíneo en las arteriolas aferentes, que se transforma en un aumento de la presión hidrostática glomerular normalizando el FG; y estimula la liberación de renina en las células yuxtaglomerulares de las arteriolas aferentes ayudando a controlar el FG, favoreciendo la regulación de la PA y el volumen de sangre que llega al glomérulo (Hall, 2016).

Por otro lado, las células yuxtaglomerulares, también conocidas como células granulares, están formadas por un tejido muscular especializado cerca de la pared de la arteriola aferente. Estas células no solo se encargan de la secreción de renina por el estímulo que llega de la mácula densa, sino que también la producen y la almacenan. El otro componente son las células de Lacis (células marginales extraglomerulares) con funciones similares a las células yuxtaglomerulares las cuales mantienen una estrecha relación con el resto de los componentes del aparato yuxtaglomerular (Cangiotti y cols., 2018; Hall, 2016; Koeppen y Stanton, 2013; Murray y Paolini, 2020).

2.2 Sistema-Renina-Angiotensina-Aldosterona

El SRAA funciona como un sistema endocrino que juega un papel clave en la fisiología cardiovascular y renal. Es uno de los principales sistemas de control de la PA y del equilibrio hídrico. La principal hormona biológicamente activa generada por este sistema es la angiotensina II (AngII); la cual se une a los receptores de angiotensina 1 y 2 (AT1 y AT2) específicos, desencadenando una amplia gama de acciones biológicas que afectan prácticamente a todos los órganos del cuerpo, incluidos el cerebro, el corazón, los riñones, los vasos sanguíneos y el sistema inmunitario. Pero la función principal del SRAA es la homeostasis circulatoria, que regula los

volúmenes del líquido corporal, por eso una activación anormal del SRAA puede contribuir al desarrollo de HTA, hipertrofia e insuficiencia cardíaca (IC), (Balakumar y Jagadeesh, 2014; Gupta y cols., 2020; Sparks y cols., 2014).

Otro componente importante es la renina, una aspartil proteasa que cataliza el primer paso de la activación del SRAA. Es sintetizada como pre-prorenina, y posteriormente se separa la porción pre y se almacena en el aparato de Golgi. La estimulación aguda produce una liberación de renina activa, pero en situaciones crónicas también se libera la prorenina. En el riñón adulto, debido a diferentes estímulos como una isquemia crónica, la activación adrenérgica prolongada o la eliminación del Na^+ , se produce un aumento y redistribución de las células que expresan renina, encontrándose células productoras de renina a lo largo de la arteriola aferente, en el intersticio y dentro del glomérulo (Sparks y cols., 2014).

El único sustrato de la renina es el angiotensinógeno, una proteína glicosilada producida y secretada por los hepatocitos a la circulación. Sus niveles plasmáticos son estables, con una vida media de cinco horas y casi siempre hay más angiotensinógeno que renina circulante. Existen otras regiones donde se produce el angiotensinógeno como el tejido adiposo, riñón, corazón, glándulas suprarrenales, cerebro, intestino y endotelio. La renina activa corta específicamente 10 aminoácidos del extremo N-terminal del angiotensinógeno para formar angiotensina I (Ang I), un decapeptido sin actividad biológica (Bitker y Burrell, 2019; Gupta y cols., 2020; Mirabito Colafella y cols., 2019; Sparks y cols., 2014).

Después de este paso, la enzima convertidora de angiotensina (ECA), convierte la Ang I en Ang II. La ECA se encuentra anclada a la membrana plasmática por un dominio transmembranal carboxiterminal y posee un centro activo formado por una metalopeptidasa de zinc donde desempeña su actividad catalítica, además posee otro dominio carboxilo-terminal (Anguiano y cols., 2017; Messerli y cols., 2018). La proteína es una ectoenzima transmembrana que se encuentra principalmente en el endotelio pulmonar, donde se genera la mayor parte de la AngII, pero también podemos encontrarla en el cerebro, el corazón, el endotelio renal y en los componentes celulares del sistema inmune. Por otro lado, la acción de la ECA también genera angiotensina 1-7 (Ang 1-7) a partir de angiotensina 1-9 (Ang 1-9) y a su vez degrada e inactiva la bradiquinina, la cual posee función natriurética y vasodilatadora (Alhenc-Gelas y Corvol, 2011; Bitker y Burrell, 2019; Gupta y cols., 2020; Sparks y cols., 2014).

La AngII es el componente vasoactivo principal, un octapéptido esencial del SRAA, con una vida media de 1-2 minutos en plasma, que rápidamente se degrada en angiotensina III, IV o Ang 1-7 bajo la acción de la enzima 2 convertidora de angiotensina (ECA2). La AngII realiza su acción en el riñón, cerebro, corteza suprarrenal, y arteriolas al unirse rápidamente a sus receptores de 7 dominios transmembranales acoplados a proteínas G, la AngII se une en un 99 % al receptor AT1 (con el cual posee mayor afinidad) y al receptor AT2 en menor medida. El receptor AT1 se encuentra en las células del músculo liso, en los glomérulos, túbulos proximales, en las glándulas suprarrenales, el corazón, los linfocitos y granulocitos. Se conoce que este receptor interviene en la RTG, estimula la reabsorción tubular de Na^+ y la contracción de las células del músculo liso (favoreciendo la vasoconstricción), lo que reduce el flujo sanguíneo renal e inhibe la secreción de renina. La estimulación del receptor AT1 también favorece la liberación de la aldosterona por la granulosa de la glándula suprarrenal y estimula en el hipotálamo los sensores de la sed. Otras acciones conocidas son las siguientes: capacidad proinflamatoria a nivel vascular, aumenta la liberación de Ca^{2+} , genera radicales de oxígeno, favorece la proliferación celular y el remodelado por medio de la activación del receptor del factor de crecimiento epidérmico (EGFR), (Bitker y Burrell, 2019; Castrop, 2015; de Kloet y cols., 2010; Gupta y cols., 2020; Mirabito Colafella y cols., 2019; Sparks y cols., 2014; J. D. Zhang y cols., 2012).

El receptor de AT2 presenta menor afinidad con la AngII, y se encuentra en el endotelio vascular, corazón, cerebro, riñones y glándulas suprarrenales. Las principales acciones del receptor AT2 antagonizan las del receptor AT1, al inhibir el factor nuclear kappa B (NFkB) lo que limita la inflamación renal, además inhibe la producción de prorenina. Así mismo favorece que los vasos produzcan ON, reduce la angiogénesis y el daño vascular (Bitker y Burrell, 2019; Gupta y cols., 2020; Sparks y cols., 2014).

La aldosterona es otro componente de este sistema, una hormona esteroidea producida a partir del colesterol en la zona glomerular de la glándula suprarrenal, liberada por la acción de la AngII sobre el receptor AT1, así como por el aumento de los niveles de la concentración de K^+ y de la hormona adrenocorticotropa (ACTH). La aldosterona interviene en la regulación de la PA, la volemia y en la homeostasis de los electrolitos, ya que provoca un aumento en la retención de Na^+ y agua, y favorece la excreción de K^+ . El receptor mineralocorticoide de la aldosterona se localiza en el túbulo distal y en el túbulo colector en la zona cortical del riñón, lugar donde lleva a cabo su función. La acción excesiva de la aldosterona en el vaso sanguíneo y en el corazón, que se

produce por una estimulación mantenida del SRAA en los pacientes hipertensos, se considera como un factor de riesgo cardiovascular, al producir un aumento de la inflamación, además favorece la fibrosis, la hipertrofia, el remodelado, y aumenta la rigidez de las arterias. La aldosterona también puede favorecer la progresión de la enfermedad cardiovascular, desde la HTA hasta la cardiopatía isquémica (Santese y cols., 2015; Te Riet y cols., 2015; Terker y Ellison, 2015). Al mismo tiempo, el efecto de la AngII sobre la volemia está mediado por el estímulo que ejerce sobre el centro de la sed en el hipotálamo, favoreciendo la liberación de ADH por la hipófisis posterior. Sin embargo, la ADH también se libera por un aumento de la osmolaridad plasmática, y dentro de sus funciones se encuentra favorecer la reabsorción de agua, mediante la inserción de canales de acuaporinas en la membrana apical del túbulo distal y del túbulo colector. En situaciones de hipovolemia severa la ADH puede aumentar sus niveles hasta cinco veces más y ejercer un efecto vasoconstrictor a través de la estimulación de los receptores vasculares V2 (Ghosh y Pandit, 2019; Gupta y cols., 2020).

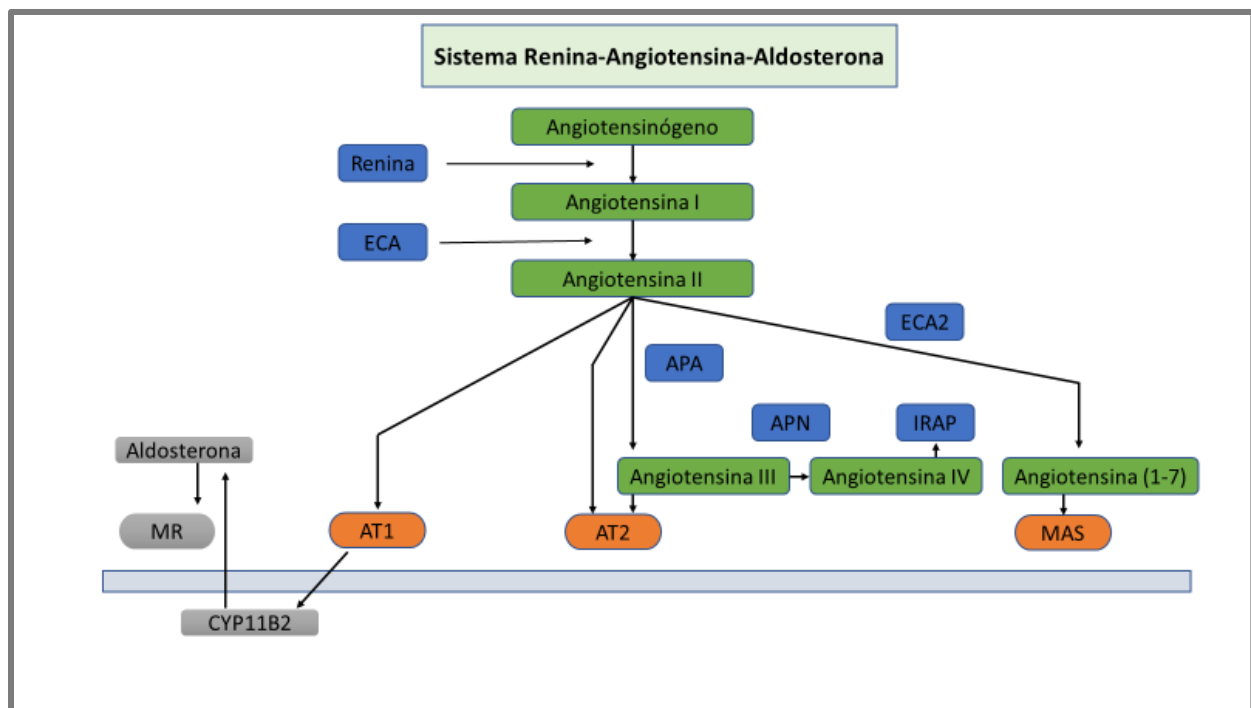


Figura 5. Resumen del Sistema Renina-Angiotensina-Aldosterona. (Adaptada de Riet y cols., 2015) APA: Aminopeptidasa A; APN: Aminopeptidasa N; AT1: Receptor angiotensina II tipo 1; AT2: Receptor angiotensina II tipo 2; CYP11B2: Aldosterona sintetasa; ECA: Enzima convertidora de angiotensina; ECA2: Enzima 2 convertidora de angiotensina; DRAP: Aminopeptidasa regulada por insulina; MR: Receptor mineralocorticoide.

La AngI se sintetiza en un 90 % a nivel local en numerosos tejidos, pero la producción local de AngII depende de la producción hepática de angiotensinógeno y de la renina que se produce en el riñón (de Kloet y cols., 2010; Te Riet y cols., 2015). Además, la ECA2 es capaz de sintetizar Ang 1-9 a partir de Ang I, y después por acción de la ECA producir la Ang (1-7), (vía no clásica). También, a partir de la AngII se puede producir directamente Ang (1-7) por acción de la ECA2. La Ang (1-7) estimula el receptor AT2, que provoca un bloqueo de los receptores mineralocorticoides, y de esta forma actúa como protector renal y cardiovascular al incrementar el flujo sanguíneo renal, el FG, la nutriuresis, y la diuresis (Bitker y Burrell, 2019; de Kloet y cols., 2010; Mirabito Colafella y cols., 2019; Pinheiro y cols., 2009; Te Riet y cols., 2015).

2.3 Autorregulación renal

Como cualquier otro órgano, el riñón posee un mecanismo de autorregulación muy complejo para asegurar el suministro de oxígeno y nutrientes, así como para la eliminación de los productos de desecho del metabolismo, independientemente de los cambios que se produzcan en la PA. La autorregulación influye sobre las fuerzas que determinan el FG, donde a su vez inciden otros mecanismos que incluye a las hormonas, el sistema nervioso simpático (SNS), y otros controles de retroalimentación (Cavagna, 2019; Hall, 2016; Sawdon, 2019). De este modo los riñones autorregulan su flujo sanguíneo mediante el ajuste de la resistencia vascular de acuerdo con los cambios en la PA, para mantener constante la TFG y flujo plasmático renal independientemente de la presión de perfusión renal; debido a esto, las modificaciones de la PA en el rango de 80 mmHg a 180 mmHg no están acompañadas de cambios significativos en el flujo plasmático renal o en la TFG. La autorregulación también sirve como amortiguador de los capilares glomerulares y del parénquima, evitando la transmisión de la hipertensión sistémica y previniendo al riñón del barotrauma (Mangan y cols., 2018).

Este mecanismo autorregulador consta de dos componentes que conducen a un cambio en la resistencia vascular preglomerular: la respuesta miogénica renal y la RTG. La evidencia sugiere que la respuesta miogénica protege los capilares glomerulares contra elevaciones rápidas de la PA; mientras que la RTG, más tardía, está involucrada en el mantenimiento de la perfusión renal y de la TFG en respuesta a reducciones sostenidas de la PA (Hall, 2016; Mangan y cols., 2018).

2.3.1 Mecanismo miogénico

El mecanismo miogénico de autorregulación renal es el primero y más rápido en responder, parece que está presente en el extremo proximal de la arteriola aferente y también en los vasos más grandes como las arterias segmentarias. La arteriola aferente responde a los cambios en la presión de perfusión *per se* y a la respuesta miogénica ante el aumento de la PA, lo cual produce una vasoconstricción que impide que el aumento de la presión sistémica pase al glomérulo y se eleve la presión capilar glomerular (Ito y Abe 1996; Møller y cols., 2018; Sawdon, 2019).

De este modo el mecanismo de retroalimentación miogénica asegura que el flujo plasmático renal y la TFG se mantengan a un ritmo relativamente constante. Esto se logra porque a medida que aumenta la PA, el estiramiento resultante de las células del músculo liso en las paredes de la arteriola provoca la despolarización de la membrana plasmática, activando canales de Ca^{2+} tipo L dependientes de voltaje. El aumento del Ca^{2+} citosólico conduce a una rápida vasoconstricción. Pero, al contrario, cuando baja la PA, las células del músculo liso se relajan generando una menor resistencia. Debido a esta vía de señalización rápida, hay pocos cambios en el flujo sanguíneo renal a pesar de las variaciones en la presión de perfusión renal (Mangan y cols., 2018).

2.3.2 Retroalimentación tubuloglomerular

El mecanismo de RTG trabaja en coordinación con la respuesta miogénica (Møller y cols., 2018), pero la RTG es más lenta y contribuye a compensar los cambios lentos que sufre la PA. Según la evidencia hasta ahora disponible, sabemos que la respuesta miogénica es más importante en la protección de los capilares glomerulares contra elevaciones rápidas de la PA, mientras que la RTG está más involucrada en el mantenimiento del flujo plasmático renal y la TFG en respuesta a reducciones sostenidas de la PA (Figura 6), (Burke y cols., 2014).

Por otra parte, el mecanismo de RTG incluye al aparato yuxttaglomerular y un mecanismo de señalización paracrina que detecta el aumento de la concentración del NaCl en el líquido tubular que llega a las células de la mácula densa. El Na^+ se detecta principalmente (75 %) por el cotransportador de Cl^- - Na^+ - K^+ (NKCC2) y el restante (25 %) por el intercambiador de sodio-

hidrógeno tipo 2 (NHE2). El Na^+ que entra a la célula por la mácula densa produce tres efectos: aumento intracelular de Na^+ , aumento intracelular del pH, y despolarización de las células de la mácula densa; lo que finalmente provoca un aumento de Ca^{2+} intracelular en la mácula densa. Estos cambios producen la liberación de ATP/Adenosina, los cuales se difunden por el mesangio extracelular del aparato yuxtaglomerular para alcanzar el tejido del músculo liso de las arteriolas. La adenosina activa los receptores A1 en la arteriola aferente que inducen vasoconstricción. El ATP por su parte, ejerce su efecto a través de su receptor purinérgico P2 o formando adenosina (Ito y Abe, 1996; Kopitkó y cols., 2020; Møller y cols., 2018; Ren y cols., 2007; Romero y Carretero, 2019b; Jurgen Schnermann, 2000). Como consecuencia, la acción de estas moléculas provoca una disminución del flujo plasmático renal y de la TFG. En el caso que ocurra una disminución del FG, ocurre todo lo contrario. Este mecanismo mantiene constante la carga filtrada entregada a los sitios de reabsorción de los túbulos renales y al mismo tiempo evitan la transmisión de elevaciones de la PA a los capilares glomerulares impidiendo el daño glomerular (Burke y cols., 2014; Mangan y cols., 2018; Sawdon, 2019).

Además, la adenosina puede tener un efecto sobre el ON y sobre la liberación de renina, promoviendo otros efectos en el lecho vascular. Pues cuando la adenosina alcanza la arteriola eferente se une a su receptor A2 que induce vasodilatación, favoreciendo la disminución del flujo sanguíneo y la presión glomerular, que por consiguiente produce una disminución del FG (Ren y cols., 2007; Romero y Carretero, 2019b).

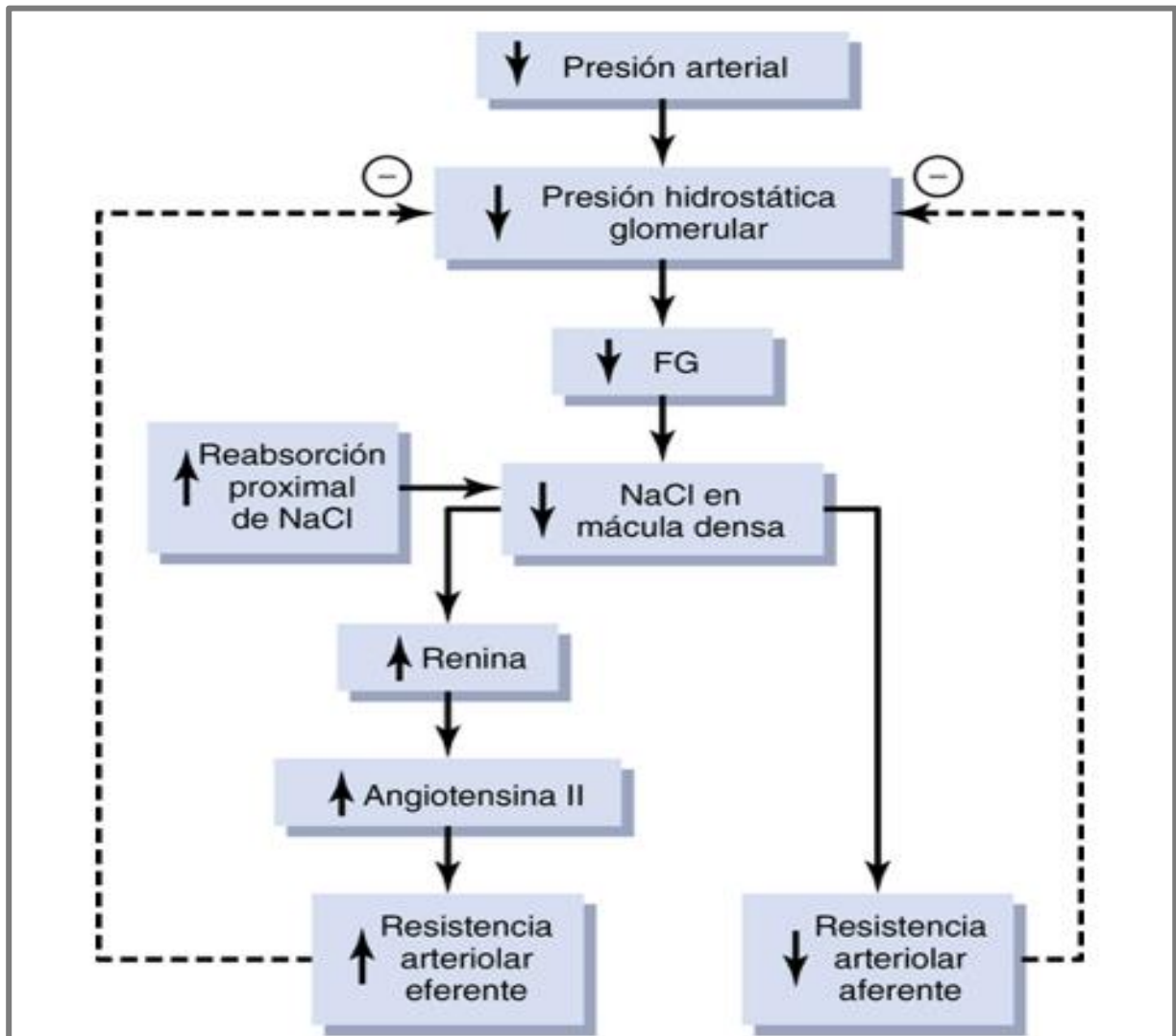


Figura 6. Mecanismo de retroalimentación tubuloglomerular (RTG) durante la disminución de la PA renal. (Hall, 2016). FG: filtrado glomerular; NaCl: cloruro de sodio.

La activación del mecanismo miogénico o tubuloglomerular trae consigo la disminución del diámetro arteriolar, pero frente a esto se desencadena la liberación de mediadores del endotelio que se oponen a la vasoconstricción. Esto ocurre cuando se detecta una alta concentración de Na^+ en el túbulo, provocado por el aumento del flujo sanguíneo glomerular y de la presión glomerular por medio de la RTG (Ren y cols., 2009; Wang y cols., 2010). Entre los mediadores que intervienen en este proceso se encuentran el ON, prostaglandinas E2 (PGE2), prostaciclina y el ácido araquidónico, estos dilatan los vasos abriendo canales de K^+ que hiperpolarizan las células lisas musculares y limitan la entrada del Ca^{2+} (Burke y cols., 2014; Schnermann y Levine, 2003). Cada

uno usa una vía de señalización diferente. El ON lo hace a través de la producción de cGMP. Las prostaciclina y PGE₂ actúan sobre sus receptores para favorecer la vasodilatación por vía del cAMP y el ácido epoxieicosatrienoico, un metabolito del ácido araquidónico que actúa sobre los canales de K⁺ en el músculo liso produciendo un potente efecto vasodilatador a través del cAMP o cAMP ribosa. Los derivados del ácido araquidónico inducen una respuesta vasodilatadora en el endotelio al bloquear la ON sintasa y la ciclooxigenasa (Cox). Por lo cual, el ON junto al ácido araquidónico participan en la modulación de la actividad del mecanismo de RTG (Burke y cols., 2014; Ren y cols., 2009; Romero y Carretero, 2019b, 2019a; H. Wang y cols., 2010). Otra vía que puede disminuir la actividad del mecanismo de RTG es el aumento del flujo en túbulo colector en la nefrona distal, que estimula la producción y liberación de PGE₂ y de epoxieicosatrienoicos, los cuales difunden a la arteriola aferente yuxtapuesta para promover vasodilatación y oponerse a la vasoconstricción (Burke y cols., 2014; Romero y Carretero, 2019b; Wang y cols., 2010).

El mecanismo de RTG está íntimamente relacionado al aparato yuxtaglomerular, a través de conexiones intracelulares en forma de uniones gap, que facilitan la comunicación entre células vecinas, donde las conexinas son el componente básico (Ren y cols., 2002). Un estudio reciente en ratones con ausencia de conexina 45 ha demostrado que su falta produce una alteración en la capacidad de respuesta miogénica reactiva de la arteriola aferente, afectando la capacidad de regulación renal a través del mecanismo de RTG (Møller y cols., 2018).

En resumen, el mecanismo de RTG es un sistema de regulación muy específico y bien ajustado, que participa en la prevención de la pérdida de NaCl y en el mantenimiento del flujo tubular a niveles relativamente constantes, por medio de la integración de los cambios tubulares de Na⁺ y los cambios hemodinámicos glomerulares, controlando las oscilaciones en la dinámica glomerular (Romero y Carretero, 2019b).

3. Regulación de la presión arterial

La regulación de la PA se realiza por diferentes mecanismos que se interrelacionan, lo que hace que este proceso sea complejo. El SNS participa en la regulación de la PA a corto plazo. Pero otros mecanismos controlan la PA a largo plazo a través de procesos que involucran el balance hídrico, distintos componentes del sistema nervioso, las hormonas y elementos que se encuentran

en los riñones (Hall, 2016; Lin y cols., 2019). Estos mecanismos actúan de forma integrada, y el riñón desempeña un papel crucial en el proceso de regulación de la PA. Por esta razón, los procesos que regulan la PA tienen numerosas implicaciones que afectan de manera directa la hemodinámica renal y la TFG.

3.1 Control neurológico

El sistema nervioso autónomo (SNA) interviene en la regulación de la PA por medio del SNS y el sistema nervioso parasimpático (SNP), (Braam y cols., 2017; D'Elia y Weinrauch, 2013; Lin y cols., 2019; Macefield y Henderson, 2019). El SNS comprende el centro vasomotor que activa las vías eferentes que inervan los ganglios simpáticos, posteriormente los nervios simpáticos activados secretan catecolaminas (noradrenalina, epinefrina), que inducen acciones en el corazón, los riñones y los vasos sanguíneos a través de los receptores presinápticos y postsinápticos (Dibona, 2013; Grassi y cols., 2012; Touyz, 2014). El aumento de la actividad del sistema SNS está implicado en la HTA, particularmente en las primeras etapas. Esto se evidencia por los niveles elevados de noradrenalina (NA) que favorece el aumento de la frecuencia cardíaca e interviene en la variabilidad de la PA, la vasoconstricción adrenérgica α y en el aumento de la reactividad vascular. Así mismo, la vasoconstricción inducida por catecolaminas en las arteriolas eferentes renales influye en la retención renal de Na^+ , lo que puede contribuir aún más en la elevación de la PA (Grassi y cols., 2012; Parati y Esler, 2012). También se pueden observar cambios en otros neurotransmisores, como el neuropéptido Y, un cotransmisor de NA; así como en la adenosina y la dopamina los cuales reflejan la acción del SNS en pacientes con HTA (Lob y cols., 2013).

Los mecanorreceptores también son componentes del SN, en particular los barorreceptores sinoaórticos (de alta presión), que se activan por el aumento de la PA, los cuales son predominantes en la regulación de la PA a corto plazo. Estos constan de un circuito de retroalimentación negativa, formados por sensores especializados ubicados en los senos carotídeos, el arco aórtico y en la bifurcación de las arterias carótidas interna y externa, los cuales responden al estiramiento circunferencial y longitudinal de los vasos sanguíneos produciendo una estimulación vagal que trae consigo vasodilatación, descenso de la frecuencia cardíaca y disminución de la fuerza de contracción cardíaca (Ghosh y Pandit, 2019; Hering y cols., 2013; Touyz, 2014).

Por otro lado, los barorreceptores cardiopulmonares se activan por el aumento de la presión venosa central, provocando una reducción en la frecuencia cardíaca y en la PA por estimulación vagal e inhibición simpática. (Hering y cols., 2013). La acción de los barorreceptores de baja presión como también se les conoce, reducen la actividad del SRAA al estimular la liberación del péptido natriurético atrial (PNA) y el péptido natriurético cerebral (PNB), los cuales intervienen en la regulación de la volemia y la reabsorción de Na^+ . También, los barorreceptores provocan una disminución de la actividad simpática sobre el riñón que estimula la vasodilatación de las arteriolas aferentes, todos estos efectos indirectamente interfieren en el control de la PA (Hall, 2016).

3.2 Regulación hormonal

La regulación de la PA por medio de las diferentes hormonas se pone de manifiesto más notablemente cuando los mecanismos de control inmediato desaparecen. Las hormonas regulan la PA al actuar sobre los vasos sanguíneos produciendo vasodilatación o vasoconstricción y alterando el volumen sanguíneo (Ghosh y Pandit, 2019; Hall, 2016).

El SRAA se describió originalmente como un regulador hemodinámico que aumenta la PA de forma aguda por vasoconstricción y de forma crónica mediante la expansión del volumen mediado por la aldosterona. La activación del SRAA comienza con la liberación de la renina como consecuencia de: la hipovolemia, la disminución de la concentración de Na^+ en el túbulo distal, la actividad del SNS a nivel renal, y la disminución de la perfusión renal. La AngII realiza su acción a través de la activación de los receptores AT1 causando una potente vasoconstricción y generando un aumento sostenido de la PA, además incrementa la absorción tubular de Na^+ y estimula la producción de aldosterona por medio de la glándula suprarrenal, que a su vez influye en la reabsorción de Na^+ y en la homeostasia del volumen sanguíneo (Hall, 2016; Hattangady y cols., 2012; Stegbauer y Coffman, 2011; Touyz, 2014). El SRAA también produce un estímulo a través de la AngII que favorece la liberación de la ADH, que también es liberada por el aumento de la osmolaridad plasmática. La ADH produce una disminución de la excreción de agua al favorecer su permeabilidad en el túbulo distal y en el túbulo colector. Este aumento de la permeabilidad se lleva a cabo mediante la inserción de acuaporinas, unos complejos homotetraméricos proteicos que forman poros en la membrana apical. De esta manera la AngII realiza su acción de una forma

más lenta y gradual al incrementar el volumen extracelular en el organismo por medio de la retención de Na^+ y agua, lo que permite una regulación de la PA a medio plazo (Ghosh y Pandit, 2019; Hattangady y cols., 2012).

En respuesta al aumento del retorno venoso los miocitos secretan en el atrio de la aurícula derecha el PNA; que posee receptores en el túbulo distal, el túbulo colector y en las arteriolas periféricas. El PNA reduce la permeabilidad osmótica al agua estimulada por la ADH en los túbulos colectores medulares internos, y atenúa la absorción de agua estimulada por la NA. El PNA reduce la captación de Na^+ al inhibir directamente los canales de Na^+ en el túbulo proximal, en el túbulo distal y en el túbulo colector independientemente de los cambios hemodinámicos, pero además reduce la acción de la aldosterona. Por consiguiente, la acción del PNA provoca una relajación de las células del músculo liso y reduce la estimulación de AngII, provocando finalmente la vasodilatación de la arteriola aferente y la vasoconstricción de la eferente que aumenta la presión hidrostática capilar glomerular y eleva la TFG (Bhagwan Dass y cols., 2019; Ghosh y Pandit, 2019; Hattangady y cols., 2012; Mangan y cols., 2018).

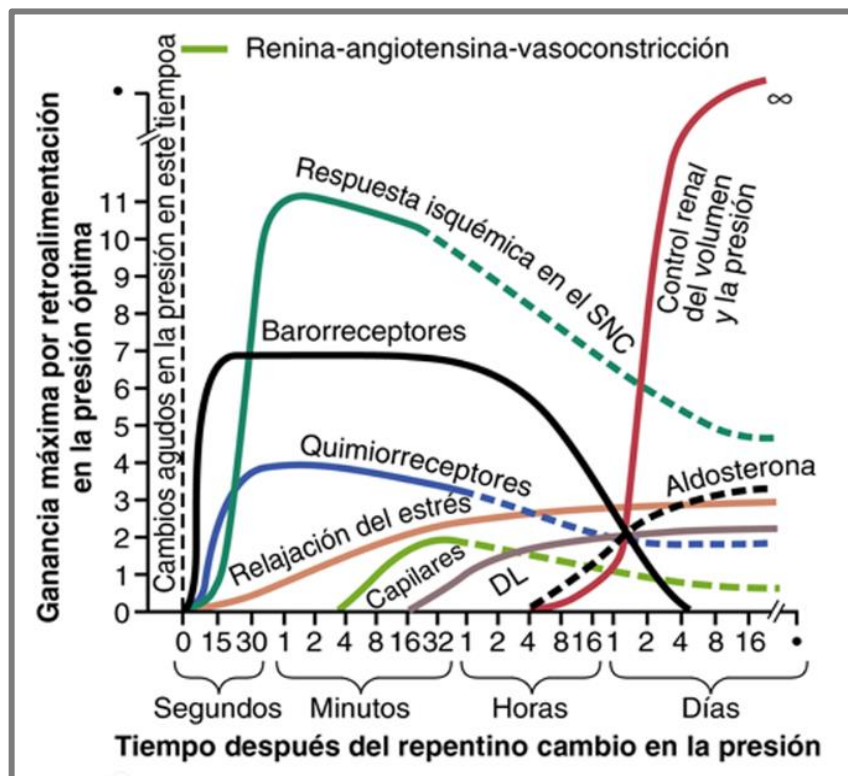


Figura 7. Resumen integrado del control de la presión arterial (Hall, 2016). DL: desplazamiento del líquido, SNC: sistema nervioso central; ∞ : infinito.

3.3 Control a largo plazo

La regulación de la PA a través del manejo del líquido corporal comienza a surtir efecto de forma tardía y es la más importante (Hall, 2016). Este mecanismo se pone de manifiesto ante la reducción de la perfusión renal y produce un aumento de la reabsorción de Na^+ al disminuir su excreción, producto de la acción de los mecanismos hormonales y del SNA, lo que trae consigo un aumento de la perfusión renal y por consiguiente de la reabsorción de Na^+ y agua. Cuando ocurre un aumento sostenido en la reabsorción de Na^+ como sucede en pacientes con HTA, se produce un aumento de la presión hidrostática intersticial renal, del ON, de la PGE2, y cininas, y una disminución de la AngII intrarrenal. Estos mecanismos aún no están del todo esclarecidos, pero se cree que por un incremento de la presión hidrostática intersticial renal se altera la reabsorción tubular, disminuyendo la reabsorción de Na^+ en el túbulo proximal al redistribuir los transportadores apicales o al liberar PGE2. Estos mediadores antes mencionados pueden estar interviniendo en la natriuresis por presión al unirse directamente a los transportadores de Na^+ en el túbulo renal (Evans y cols., 2005; Ghosh y Pandit, 2019; Granger y cols., 2002; Touyz, 2014).

Así mismo, se denomina natriuresis por presión al componente central del proceso de regulación a largo plazo de la volemia y de la PA. La función barostática renal, a través del control del volumen del líquido extracelular, es el principal regulador de la PA a largo plazo. Este mecanismo se pone de manifiesto cuando la absorción de Na^+ es anormal y existe un aumento de la PA. El riñón puede mantener un equilibrio entre la ingesta y la excreción de Na^+ , que son los principales responsables del control del compartimento extracelular y los volúmenes sanguíneos. Esto se basa en tres características que definen a la función en la regulación de la PA a largo plazo: es sensible a la PA, no es adaptativa y funciona con ganancia infinita (Hall, 2016; López-Hernández y López-Novoa, 2006).

En pacientes con HTA, un desplazamiento hacia la derecha de la curva de excreción de Na^+ impide el retorno de la presión a la normalidad. Los factores que se incluyen en este proceso son: el aumento de la resistencia vascular renal, el aumento de la fracción de filtración, el aumento de la presión oncótica peritubular y consecuentemente el aumento de la reabsorción de Na^+ ; lo que contribuye aún más a la sobrecarga de Na^+ y de líquidos, y al aumento de la PA. Aunque no se ha demostrado de manera concluyente, también se ha sugerido que una reducción en la superficie de

filtración, debido al número reducido de nefronas o una reducción en el área de superficie de filtración por glomérulo, puede limitar la excreción renal de Na^+ (Touyz, 2014; Walker y cols., 2012). Este mecanismo de control a largo plazo está íntimamente relacionado e interactúa con el SRAA, SNA y otros factores que permiten el control de la PA en situaciones determinadas (Hall, 2016).

4. Daño renal agudo

El daño renal agudo (DRA) es un síndrome que se caracteriza por la pérdida de la función renal en horas o días, donde existe una disminución de la TFG, aumento de la creatinina y del nitrógeno ureico en sangre (BUN), con o sin disminución en la excreción de orina. Además, se acumulan en sangre los ácidos derivados del metabolismo, K^+ , fosfato y otros productos de desecho (Bellomo y cols., 2012; Farrar, 2018; Peregrín y cols., 2019). Este síndrome puede desarrollarse en pacientes hospitalizados o en la comunidad, y puede requerir terapia renal sustitutiva, además de causar complicaciones severas que incluyen la muerte (Farrar, 2018).

Actualmente se continúa usando el valor la CrP y los volúmenes de orina como los criterios internacionalmente aceptados para el diagnóstico del DRA, pero estos presentan sus limitaciones, entre los cuales están: i) el no distinguir entre los diferentes tipos de DRA, ii) la diuresis puede modificarse por múltiples factores, además de que puede existir un DRA sin oliguria, iii) el uso de la creatinina como criterio presenta una problemática, ya que no todos los pacientes con DRA tienen una creatinina basal previa al evento, que permita evaluar realmente su incremento; además de que la creatinina puede variar por factores como la edad, la dieta, la masa muscular, el uso de fármacos que interfieran en su secreción o eliminación y el balance hídrico (Peregrín y cols., 2019). Algunos de estos factores relacionados con el diagnóstico del DRA se abordarán más adelante.

4.1 Criterios diagnósticos

A pesar de las limitaciones que presentan los diferentes sistemas de clasificación para llegar al diagnóstico del DRA, su uso está bien establecido en la actualidad. Los criterios usados actualmente son (Tabla 1): el criterio RIFLE, que fue el primero en desarrollarse; posteriormente se creó el AKIN; y por último el KDIGO (Khwaja, 2012; Ricci y cols., 2008; Tsai y cols., 2017), que es el recomendado actualmente. La tabla 1 muestra la evolución comparativa de los criterios.

Criterio RIFLE: riesgo (R, del inglés *risk*), daño (I, del inglés *injury*), fallo (F, del inglés *failure*), pérdida (L, del inglés *loss*) y enfermedad renal terminal (E, del inglés *end-stage renal disease*). La clasificación RIFLE utiliza los valores de CrP y la diuresis, y considera tres niveles de gravedad en el DRA (riesgo, lesión y fallo), y dos clases de resultado (pérdida de la función y enfermedad renal en etapa terminal). El paciente se clasifica de acuerdo con el valor más alto, que por ende conduce al peor estadio dentro de la clasificación (máximo valor de RIFLE), (Lopes y Jorge, 2013; Mehta y cols., 2007; Ricci y cols., 2008; Searns y cols., 2020).

Criterio AKIN: La clasificación hecha por el grupo de daño renal agudo (AKIN, de sus siglas en inglés *acute kidney injury network*) es una versión posterior de la clasificación RIFLE con algunas modificaciones. Aquí, el diagnóstico de DRA solo se considera después de alcanzar un estado adecuado de hidratación y después de excluir la obstrucción urinaria; la clasificación AKIN solo se basa en la CrP y no en los cambios de la TFG. La creatinina basal no es necesaria en esta clasificación y requiere al menos dos valores de CrP obtenidos en un período de 48 horas. Por otro lado, en este criterio no están incluidos los estadios *Loss* y *End-Stage* (Lopes y Jorge, 2013; Tsai y cols., 2017).

Criterio KDIGO: (*Kidney disease: improving global outcomes*) es el más reciente y el más empleado. Con este criterio el DRA se define como un aumento de la creatinina de 0,3 mg/dL o más en 48 horas, o un aumento de la creatinina 1,5 veces o más del valor basal en los primeros 7 días, o por un volumen urinario menor de 0,5 mL/kg/hora en 6 horas. Entre las diferentes clasificaciones descritas, la clasificación KDIGO parece ser mejor para el diagnóstico y la aproximación pronóstica que las anteriores (Khwaja, 2012; Peregrín y cols., 2019; Tsai y cols., 2017).

CRITERIO DIAGNÓSTICO DEL DAÑO RENAL AGUDO			
Criterio Diagnóstico	RIFLE	AKIN	KDIGO
		Elevación de creatinina $\geq 0,3$ mg/dl $0 \geq 50\%$ en 48 horas o diuresis $\leq 0,5$ ml/Kg/hora en > 6 horas	Elevación de creatinina $\geq 0,3$ mg/dl en 48 horas o $\geq 50\%$ en 7 días o diuresis $\leq 0,5$ ml/Kg/hora en > 6 horas
Estadios			
Risk (Rifle) o Estadio 1 (AKIN/KDIGO)	Aumento de la creatinina un 50-99 % o diuresis $\leq 0,5$ ml/Kg/hora en 6-12 horas	Aumento de creatinina $\geq 0,3$ mg/dl $0 \geq 50\%$ -100% o diuresis $\leq 0,5$ ml/Kg/hora en 6-12 horas	Aumento de creatinina $\geq 0,3$ mg/dl $0 \geq 50\%$ -99% o diuresis $\leq 0,5$ ml/Kg/hora en 6-12 horas
Injury (Rifle) o Estadio 2 (AKIN/KDIGO)	Aumento de creatinina un 99-100 % o diuresis $\leq 0,5$ ml/Kg/hora en 12-24 horas	Aumento de creatinina >100 -200% o diuresis $\leq 0,5$ ml/Kg/hora en 12-24 horas	Aumento de creatinina >100 -199% o diuresis $\leq 0,5$ ml/Kg/hora en 12-24 horas
Failure (Rifle) o Estadio 3 (AKIN/KDIGO)	Aumento de la creatinina un 200 % o aumento de la creatinina desde $> 0,5$ mg/dl a > 4 mg/dl o diuresis $< 0,3$ ml/Kg/hora en 24 horas o anuria > 12 horas o inicio de terapia renal sustitutiva	Aumento de la creatinina un 200 % o aumento de la creatinina desde $> 0,5$ mg/dl a > 4 mg/dl o diuresis $< 0,3$ ml/Kg/hora en 24 horas o anuria > 12 horas o inicio de terapia renal sustitutiva	Aumento de la creatinina un 200 % o aumento de la creatinina desde $> 0,3$ mg/dl a > 4 mg/dl o diuresis $< 0,3$ ml/Kg/hora en 24 horas o anuria > 12 horas o inicio de terapia renal sustitutiva
Loss (Rifle)	Necesidad de terapia renal sustitutiva $>$ de 4 semanas		
End Stage (Rifle)	Necesidad de terapia renal sustitutiva $>$ de 3 meses		

Tabla 1. Criterios de diagnóstico del daño renal agudo (Adaptada de Peregrín y cols., 2019). AKIN: *acute kidney injury network*; KDIGO: *kidney disease: improving global outcomes*; RIFLE: *risk injury failure lost end stage*.

4.2 Epidemiología y costos

El DRA es un problema sanitario muy importante, pues representa un reto para los profesionales de la salud, debido a la alta incidencia dentro de la población, representando un 1-9 % de los pacientes hospitalizados, y el 40 % de los pacientes que ingresan en cuidados intensivos (Bellomo y cols., 2012). Se estima que alrededor de 13,3 millones de personas sufren un DRA al año, de los cuales alrededor del 15 % mueren (Komaru y cols., 2020). Según los datos recopilados por diferentes estudios, es el sexo masculino el más predominante en los casos diagnosticados de DRA, con más de 60 %. Además, la edad media de los pacientes que padecen DRA supera los 60 años y muchos de estos pacientes también tienen alguna comorbilidad dentro de las que se encuentran: las enfermedades cardiovasculares, la HTA, la diabetes mellitus (DM), las enfermedades respiratorias crónicas y la cirrosis; lo que produce un aumento de las complicaciones y de las defunciones (Hoste y cols., 2018; Komaru y cols., 2020; Melo y cols., 2020).

En el año 2012, en los Estados Unidos, el 10,2 % de los pacientes fueron hospitalizados a causa del DRA y el 3,5 % necesitó diálisis. Además, se observó que el coste medio de hospitalización por DRA excedía los costes asociados a otros procesos agudos como el infarto agudo de miocardio, o el sangrado intestinal (Silver y cols., 2017). La mayoría de los casos de DRA ocurren en pacientes en cuidados intensivos y la mortalidad se encuentra en un rango de 24 % a 64 %. Otras de las consecuencias del DRA incluyen el aumento de la estancia hospitalaria, la ERC y la enfermedad renal en etapa terminal (Grams y cols., 2016; Lydia y cols., 2019; Silver y cols., 2017). Un estudio realizado en Estados Unidos durante el 2013 determinó que las hospitalizaciones que involucraban un DRA eran más caras, entre 1.700 dólares a 7.900 dólares, que las que no involucraban un DRA (Silver y cols., 2017). De igual modo, otro estudio realizado en Canadá de 2002-2009, evidenció que la estancia hospitalaria era más larga en pacientes con DRA, donde las formas leves resultaron en un costo ajustado 1,2-1,3 veces mayor que en aquellos sin un DRA y 1,8-2,5 veces mayor en los que presentaron un DRA grave (Collister y cols., 2017). Así mismo los pacientes que más elevan el costo son aquellos con DRA grave que necesitan diálisis (Silver y Chertow, 2017), llegando a un incremento del 63 % (Fischer y cols., 2005). Estos costes sugieren que un pequeño porcentaje de pacientes con DRA representan entre el 20 y el 25 % en el incremento de los costes hospitalarios relacionados con el DRA (Silver y Chertow, 2017).

De igual manera, los pasos para llegar al diagnóstico del DRA, la instauración de tratamiento oportuno, unido a la estancia en cuidados intensivos y el manejo de las complicaciones que resultan de esta enfermedad, contribuyen a elevar el gasto de los sistemas sanitarios, consumiendo aproximadamente el 1 % del presupuesto de salud (Silver y Chertow, 2017). El DRA es un gran problema sanitario, por el hecho de que los pacientes hospitalizados presentan diferentes etiologías, distinto grado de daño renal, con un alto riesgo de resultados adversos que aumentan la utilización de recursos. Debido a la gran cantidad de pacientes afectados y estas circunstancias, se justifica la búsqueda de mejoras en la prevención, en el reconocimiento y en el tratamiento del DRA en la población hospitalaria en general (Hoste y cols., 2018).

En términos globales la incidencia del DRA es alta, ya que representa 1 de cada 5 ingresos hospitalarios en adultos y 1 de cada 3 en niños (Sancho-Martínez y cols., 2015; Susantitaphong y cols., 2013). Por otro lado, en los países ricos ha disminuido la mortalidad en los pacientes con DRA en los últimos años, debido al aumento del porcentaje del producto interno bruto destinado a salud (Susantitaphong y cols., 2013), pero no así la incidencia, ya que el DRA puede ser causado por un amplio grupo de afecciones, y la epidemiología del síndrome puede variar en términos de incidencia y prevalencia (Ronco y cols., 2012). Existen numerosos factores de riesgo relacionados con el DRA, como la exposición a fármacos, incluyendo aquellos que actúan sobre el SRAA, los diuréticos, entre otros. A esto se añade el sexo masculino, la edad avanzada, la hipoalbuminemia, las comorbilidades, la hospitalización, el ingreso en cuidados intensivos (Lydia y cols., 2019), la sepsis, así como la hipovolemia y el uso de medios de contraste (Hoste y cols., 2018; Searns y cols., 2020); en definitiva, todos estos factores de riesgo favorecen que aumente la incidencia del DRA.

4.3 Clasificación

Hay muchas causas y condiciones que pueden conducir a un DRA, las cuales pueden tener diferentes mecanismos fisiopatológicos (Sancho-Martínez y cols., 2015) que afectan el funcionamiento renal. Estas alteraciones pueden ocurrir en la perfusión sanguínea renal, sobre el parénquima renal o en las vías excretoras urinarias. Dependiendo del elemento alterado, el DRA se clasifica como: prerrenal, si falla la perfusión renal; parenquimatoso o intrarrenal, si se altera

alguna estructura del parénquima renal; y obstructivo o postrenal, si se interrumpe el flujo urinario (Farrar, 2018; Ostuni y Musso, 2019; Peregrín y cols., 2019).

4.3.1 Daño renal agudo prerrenal

El DRA prerrenal es la forma más común, pues representa el 70 % de los casos extrahospitalarios y el 40 % de los intrahospitalarios (Peregrín y cols., 2019). El DRA prerrenal se debe a la reducción de la TFG por la alteración en la hemodinámica renal que provoca una disminución del flujo sanguíneo renal más allá del control ejercido por la autorregulación, y al desequilibrio en la contractilidad de las arteriolas aferentes y eferentes, que conduce a la reducción de la presión intraglomerular (Sancho-Martínez y cols., 2015), sin afectación de las estructuras tisulares renales. El DRA prerrenal se desencadena por situaciones como la hipovolemia (Lameire y cols., 2005) que puede ser provocada por diferentes causas entre las que se encuentra la IC, la insuficiencia hepática, el síndrome hepatorenal (Amin y cols., 2019; Farrar, 2018; Ostuni y Musso, 2019; Peregrín y cols., 2019; Radi, 2018; Washinger, 2017), la sepsis (Smith y Schnellmann, 2018) y el síndrome de respuesta inflamatoria sistémica (Moore y cols., 2018), entre otras enfermedades y situaciones que podemos ver resumidas en la tabla 2. Pero no solo las enfermedades pueden estar involucradas en la aparición del DRA prerrenal, sino también el uso de ciertos fármacos que pueden provocar una alteración en la modulación vascular, como es el caso de los AINEs, los IECAs, los ARAII, los diuréticos y las ciclosporinas entre otros (Moore y cols., 2018; Radi, 2018). Estas situaciones provocan una disminución aguda y severa de la PA, que genera una interrupción grave del flujo sanguíneo renal (Washinger, 2017) con repercusión en la función de este órgano (Makris y Spanou, 2016; Radi, 2018).

Prerenal	Intrínseco	Postrenal
<p>Hipovolemia:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Hemorragia • Disminución del volumen sanguíneo • Excesivo aumento de la diuresis • Quemadura • Peritonitis • Trauma muscular <p>Cardiovascular:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Insuficiencia cardíaca congestiva • Infarto agudo de miocardio • Infarto pulmonar masivo <p>Vasodilatación sistémica:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Medicación antihipertensiva • Infección de bacterias Gram negativa • Cirrosis • Choque anafiláctico <p>Aumento de la resistencia vascular:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Anestesia • Cirugía • Síndrome hepatorenal • Uso de AINEs • Ciclosporina 	<p>Tubular:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Isquemia Renal: Choque, hemorragia, trauma, etc. • Nefrotóxicos: antibióticos, antineoplásicos, contrastes, etc. • Toxinas endógenas: mioglobina, hemoglobina, ácido úrico. <p>Glomerular:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Glomerulonefritis aguda post-infecciosa • Nefritis lúpica • Endocarditis infecciosa • Enfermedad de Wegener, etc. <p>Intersticial:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Infección: bacteriana y viral • Medicamentos: antibióticos, diuréticos, AINEs, etc. <p>Vascular:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Grandes vasos: estenosis bilateral de la arteria renal, trombosis bilateral de vena renal. • Pequeños vasos: vasculitis, hipertensión maligna, púrpura trombocitopénica trombótica, etc. 	<p>Obstrucción extrarrenal:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Hipertrofia prostática • Catéter mal colocado • Cáncer de vejiga, próstata o cervical • Fibrosis retroperitoneal <p>Obstrucción intrarrenal:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Nefrolitiasis • Coágulo de sangre • Necrosis papilar

Tabla 2. Causas de daño renal agudo (Makris y Spanou, 2016). AINEs: antiinflamatorios no esteroideos.

Algunos estudios en modelos animales de DRA donde se ocluye la arteria renal, ha demostrado que existen muchas vías que probablemente estén implicadas en los mecanismos de lesión orgánica (Bellomo y cols., 2012; Lameire y cols., 2005). Se ha visto que en el DRA prerenal existe una activación local del sistema de coagulación, con infiltración de leucocitos, lesión endotelial, aumento de la expresión de moléculas de adhesión, liberación de citoquinas e inducción de receptores tipo Toll. Así mismo, se activan vías vasoconstrictoras intrarrenales y de inducción de la apoptosis a este nivel (Bellomo y cols., 2012; Saikumar y Venkatachalam, 2003).

En el DRA prerenal existe una activación del SRAA, del SNS y del mecanismo de RTG. Además, en situaciones como la sepsis, la infección induce la ON sintasa que provoca vasodilatación por medio del ON, que a su vez causa una disminución del flujo arterial lo que lleva

a una activación de los barorreceptores. Estos cambios circulatorios desencadenan la activación del SNS, lo que induce una mayor actividad del SRAA y provoca vasoconstricción renal. Simultáneamente se libera ADH que contribuye a la retención de agua. En pacientes con síndrome hepatorenal la intensa vasoconstricción renal está asociada a una activación del SRAA, sugiriendo que los eventos neuro-hormonales potencian el desarrollo de la enfermedad (Amin y cols., 2019; Bellomo y cols., 2012; Smith y Schnellmann, 2018).

La respuesta neuro-hormonal genera vasodilatación para apoyar la circulación sistémica, pero a cambio la circulación renal se ve afectada negativamente. Por lo tanto, el aumento en las concentraciones de NA, renina y AngII pueden contribuir a otras formas de DRA, sugiriendo que al menos en algunas situaciones, la vasoconstricción renal neuro-hormonal podría ser un mecanismo fundamental en la pérdida de la función excretora (Bellomo y cols., 2012).

En situaciones de hipoperfusión renal, los mecanismos de autorregulación mantienen la presión de perfusión glomerular, produciendo una disminución de la resistencia de la arteriola aferente y probablemente de las arterias interlobulares, con el aumento simultáneo de la resistencia de la arteriola eferente (Figura 8). La AngII es la principal responsable de la vasoconstricción de la arteriola eferente en situaciones de hipovolemia, y su bloqueo por los IECAs y los ARAII (Lameire y cols., 2005; Peregrín y cols., 2019; J. Scott y cols., 2019), en estas circunstancias, es una causa frecuente de la reducción brusca del FG. La inhibición de las PGs (vasodilatadoras renales) por acción del bloqueo de la ciclooxigenasa 1 y 2 (Cox-1 y Cox-2) por los AINEs (Lameire y cols., 2005; Pai, 2015; Peregrín y cols., 2019) intensificarían el aumento en la resistencia vascular renal y la caída del flujo plasmático renal. La vasoconstricción de la arteriola eferente reduce la presión hidrostática en los capilares peritubulares y el túbulo proximal que, en conjunto con las elevadas concentraciones de aldosterona, AngII y ADH, más un descenso en las concentraciones de sustancias natriuréticas como el PNA y la urodilatina, van a producir una mayor reabsorción de Na^+ y agua. Todo esto produce una orina de escaso volumen muy concentrada y con poca cantidad de Na^+ (menos de 20 mEq/L), además con una alta osmolalidad (más de 500 mOsm/L) y una excreción fraccional de Na^+ baja (EFNa) menor del 1 % (Peregrín y cols., 2019).

Sin embargo, si este DRA prerrenal no es corregido correctamente y la hipoperfusión se prolonga en el tiempo o es muy grave, se puede producir un daño hipóxico en las células tubulares renales con pérdida de la polaridad, necrosis y apoptosis celular; que daría lugar a una necrosis

tubular aguda (NTA), un tipo de DRA intrarrenal o parenquimatoso (Bie, 2018; Blowey, 2016; Hall, 2016; Lameire y cols., 2005; Peregrín y cols., 2019).

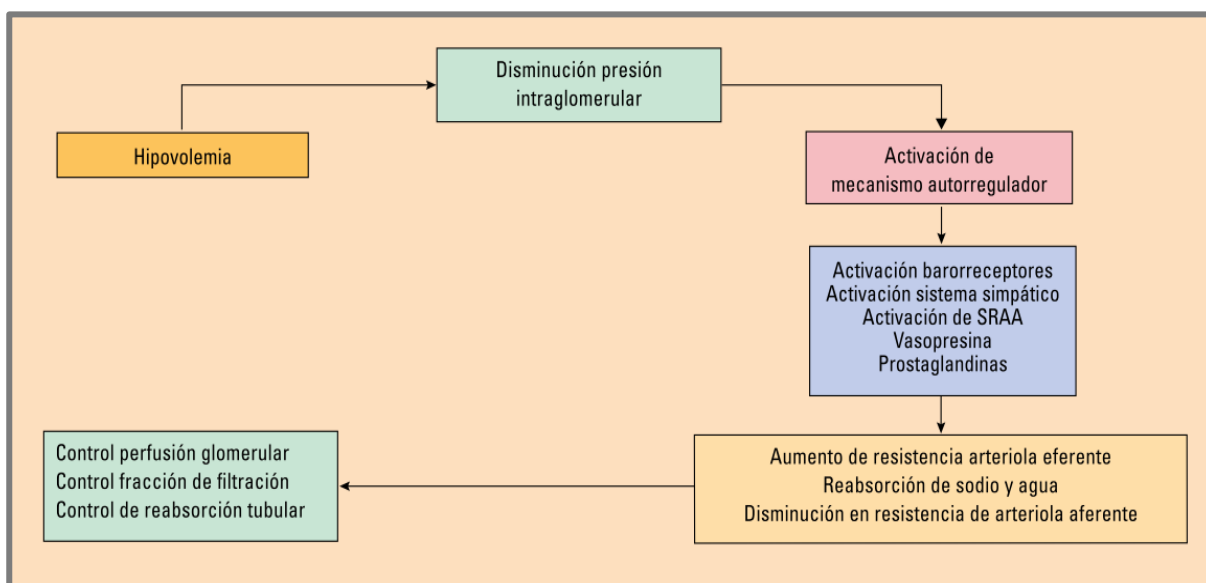


Figura 8. Mecanismo de autorregulación renal en la hipoperfusión renal. (Peregrín y cols., 2019). SRAA: Sistema Renina-Angiotensina-Aldosterona.

4.3.1 Daño renal agudo intrarrenal o parenquimatoso

El DRA intrarrenal es aquel que ocurre en el parénquima renal (Peregrín y cols., 2019; Sancho-Martínez y cols., 2015). El 80 % de los casos se debe a una isquemia donde se ven afectadas las estructuras renales, como son los túbulos, el glomérulo, el intersticio y los vasos sanguíneos intrarrenales. En el daño tubular isquémico se produce un descenso del flujo sanguíneo al riñón como resultado de una isquemia prolongada. Dentro de las causas más importantes y comunes de DRA intrarrenal (Tabla 2) se pueden mencionar las cirugías cardíacas, aneurismas intraabdominales, que pueden causar una isquemia junto a hipovolemia; además de la pancreatitis severa, choque hemorrágico, y choque cardiogénico. Por otra parte, el daño puede ser causado por nefrotóxicos los cuales afectan directamente a los túbulos del riñón, entre ellos hay diferentes medicamentos como los antibióticos, los medios de contraste, el cisplatino, las drogas ilícitas, etc. (Bellomo y cols., 2012; Farrar, 2018; Moore y cols., 2018; Washinger, 2017). Ahora bien, dependiendo de la estructura renal que se afecte se pueden dar diferentes síndromes o enfermedades. Este es el caso de la glomerulonefritis que ocurre cuando se ve afectado el

glomérulo, se observa en enfermedades autoinmunes, infecciones, tumores, DM, etc. (Hall, 2016; Peregrín y cols., 2019). Si el daño es tubular, se denomina necrosis tubular aguda (NTA), (Peregrín y cols., 2019; Sancho-Martínez y cols., 2015; Waikar y cols., 2013), siendo la causa más común de DRA parenquimatoso, y de forma específica en pacientes hospitalizados. Y si afecta a los túbulos y al intersticio al mismo tiempo, se denomina nefritis tubulointersticial aguda (NTIA). Cuando se trata de afectación vascular, se debe mayormente a enfermedades de los pequeños vasos como las vasculitis, entre las que caben mencionar el síndrome hemolítico urémico (SHU) y la púrpura trombocitopénica idiopática (PTI). Así mismo, la afectación de grandes vasos es causa de DRA de tipo parenquimatoso cuando se forman émbolos que obstruyen la arteria renal o existe una trombosis en la vena renal (Makris y Spanou, 2016; Peregrín y cols., 2019).

4.3.2 Daño renal agudo postrenal

El DRA postrenal es aquel que ocurre por una obstrucción aguda del flujo urinario (Farrar, 2018; Peregrín y cols., 2019; Sancho-Martínez y cols., 2015). El 20 % de los casos de DRA postrenal son adquiridos en la comunidad y solo el 5 % ocurre en el ámbito hospitalario. La obstrucción puede ser parcial, completa, unilateral o bilateral. Puede afectar al tracto urinario superior (pelvis renal, y uréteres) o al tracto urinario inferior (vejiga y uretra) (Meola y cols., 2016; Washinger, 2017). El DRA por obstrucción produce un aumento de la presión intratubular y disminuye la TFG. La obstrucción por sí misma puede producir un deterioro del flujo renal y desencadenar un proceso inflamatorio que contribuya a disminuir la TFG (Farrar, 2018; Makris y Spanou, 2016). Esta obstrucción se caracteriza por disuria, dificultad para orinar, hematuria e HTA, sin embargo, el síntoma más común en el DRA postrenal es la disminución de la excreción de orina, que puede ir desde la oliguria hasta la anuria (Farrar, 2018; Makris y Spanou, 2016; Washinger, 2017). Las causas más comunes de obstrucción son la hiperplasia prostática benigna, cáncer de próstata, cáncer cervical, enfermedades del retroperitoneo, cólicos nefríticos y traumatismos (Tabla 2), (Farrar, 2018; Peregrín y cols., 2019; Sancho-Martínez y cols., 2015). Así mismo, si la obstrucción no se resuelve, el daño renal evoluciona a una fibrosis túbulo intersticial irreversible (Peregrín y cols., 2019).

5. Fármacos relacionados con el daño renal agudo

Actualmente se conocen numerosos fármacos nefrotóxicos que producen o favorecen la aparición de DRA (Bellomo y cols., 2012; Farrar, 2018; Peregrín y cols., 2019; Washinger, 2017). Dentro de este gran número de fármacos están los utilizados para el control de la PA, que incluye a los ARAII, los IECAs y los diuréticos, así como a los AINEs, que se usan para el control del dolor agudo y crónico, los cuales cuando son combinados se relacionan con la aparición de DRA. El DRA producida por la combinación de este grupo de fármacos se conoce como triple golpe (del inglés *Triple Whammy*) descrito en el año 2000, después de diferentes reportes de farmacovigilancia (Maxson, 2017). Esta triple terapia provoca una alteración simultánea en los mecanismos que controlan la PA y la TFG, lo que sumado a otros factores puede causar un DRA (Prieto-García y cols., 2016). A continuación, describiremos cada uno de estos grupos de fármacos y sus efectos nocivos renales.

5.1 Antiinflamatorios no esteroideos

Los AINEs son un grupo heterogéneo de fármacos, dentro de los cuales se encuentran el ácido acetil salicílico, paracetamol, metamizol, ácido mefenámico, diclofenaco, ketorolaco, la indometacina, ibuprofeno, dexketoprofeno, naproxeno, piroxicam, clonixinato de lisina, así como los inhibidores selectivos de la Cox2: celecoxib, etoricoxib, etc., (Moore y cols., 2015; Pireto Setién, 2007) los cuales son usados como antipiréticos y como analgésicos en las enfermedades reumatológicas y musculoesqueléticas, o en procesos degenerativos como la osteoartritis y osteoartrosis. Por esta razón el uso de los AINEs está generalizado en todo el mundo; al año se recetan 70 millones y se compran otros 30 millones de dosis sin recetas (Pai, 2015). El mecanismo de acción de estos fármacos se realiza a través de la inhibición de la Cox-1 y la Cox-2, las cuales intervienen en la síntesis de las PGs a partir del ácido araquidónico. Las PGs llevan a cabo diferentes funciones, como la regulación de la inflamación, del dolor, de la agregación plaquetaria, y de la fiebre, entre otros (Díaz-González y Sánchez-Madrid, 2015; Moore y cols., 2015). En la corteza renal se produce PGE2 y prostaglandinas I2 (PGI2) y en la médula renal solo la PGE2, las cuales favorecen la vasodilatación renal y por ende el aumento del flujo sanguíneo renal.

Las células glomerulares y mesangiales pueden sintetizar ambas PGs, y al ubicarse en este lugar influyen sobre el flujo sanguíneo renal, la TFG y la liberación de renina. Así también, las PGs sintetizadas en la corteza estimulan la liberación de renina (Osborn y cols., 1984; Simmons y cols., 2004). Además, la Cox-2 que se encuentra en la mácula densa puede estimular la secreción de renina por medio de la síntesis de PGE2 en las células mesangiales (Harris y cols., 1994; Simmons y cols., 2004).

Debido a lo antes descrito, todos los AINEs pueden afectar la función renal al inhibir en el riñón la Cox-1 y la Cox-2, ya que la Cox-1 interviene en la regulación hemodinámica y la Cox-2 en la excreción de sal y agua (Lucas y cols., 2019; Moore y cols., 2015). Dado que los AINEs inhiben la cascada de ácido araquidónico, selectivamente o no, provocan una disminución en la formación de PGs. En los riñones las PGs (principalmente las prostaciclina, PGE2, PGI2) actúan como vasodilatadores en la arteriola aferente, incrementando la perfusión renal, distribuyendo el flujo de la corteza a las nefronas de la región medular renal. Los AINEs inhiben este mecanismo y pueden provocar vasoconstricción aguda e isquemia de la médula renal, lo que puede favorecer el DRA (Lucas y cols., 2019). Además, los AINEs que afectan a ambas enzimas (Cox-1 y Cox-2) pueden provocar retención de Na⁺, edema periférico, aumento de la PA e IC, así como hiperpotasemia y DRA (Moore y cols., 2015; Weir, 2002). También, el uso de ibuprofeno en ambientes calurosos favorece la deshidratación y junto con el estrés puede aumentar el riesgo de DRA (Farquhar y cols., 1999; Moore y cols., 2015).

La mayor parte de los efectos producidos por los AINEs se deben a la inhibición de la enzima Cox-1, al disminuir la vasodilatación renal en la arteriola aferente del glomérulo, provoca a una disminución de la presión de perfusión glomerular que finalmente afecta la hemodinámica renal (Pai, 2015; Ungprasert y cols., 2015). Por todo esto, el uso de AINEs representa un riesgo evidente para sufrir DRA. Así lo evidencia un estudio de cohorte prospectivo con 826 pacientes con diagnóstico de DRA, demostrando que 1 de cada 5 supervivientes de DRA estaba usando AINEs regularmente, y más de la mitad de los que tomaban AINEs usaron estos medicamentos antes y después del primer episodio de DRA (Lipworth y cols., 2016). Según otro estudio, los pacientes que usaron una combinación de diclofenaco y acetaminofén para el dolor postoperatorio presentaron una incidencia de DRA del 7,7 %, además el riesgo era mayor si el paciente presentaba HTA o cirrosis (Zhu y cols., 2018). Las posibilidades de desarrollar DRA aumentan un 50 % en

las personas que están expuestas a los AINEs en la población general, pero en los pacientes con ERC y en personas mayores estas probabilidades se duplican (Zhang y cols., 2017).

Los AINEs están asociados con el DRA en niños deshidratados por gastroenteritis aguda (Balestracci y cols., 2015), y en niños ingresados en cuidados intensivos (Slater y cols., 2017), algunos de los cuales evolucionan a la ERC (Clavé y cols., 2019). Además, se conoce que existe una relación entre la ingesta de AINEs y el desarrollo de síndrome nefrótico (Mérida y Praga, 2019). Con estos datos quedan claro los efectos negativos de los AINEs sobre el riñón, pues entre 1-5 % de los pacientes que toman estos fármacos sufrirán un episodio de DRA y el riesgo aumenta considerablemente en los pacientes mayores (Pai, 2015).

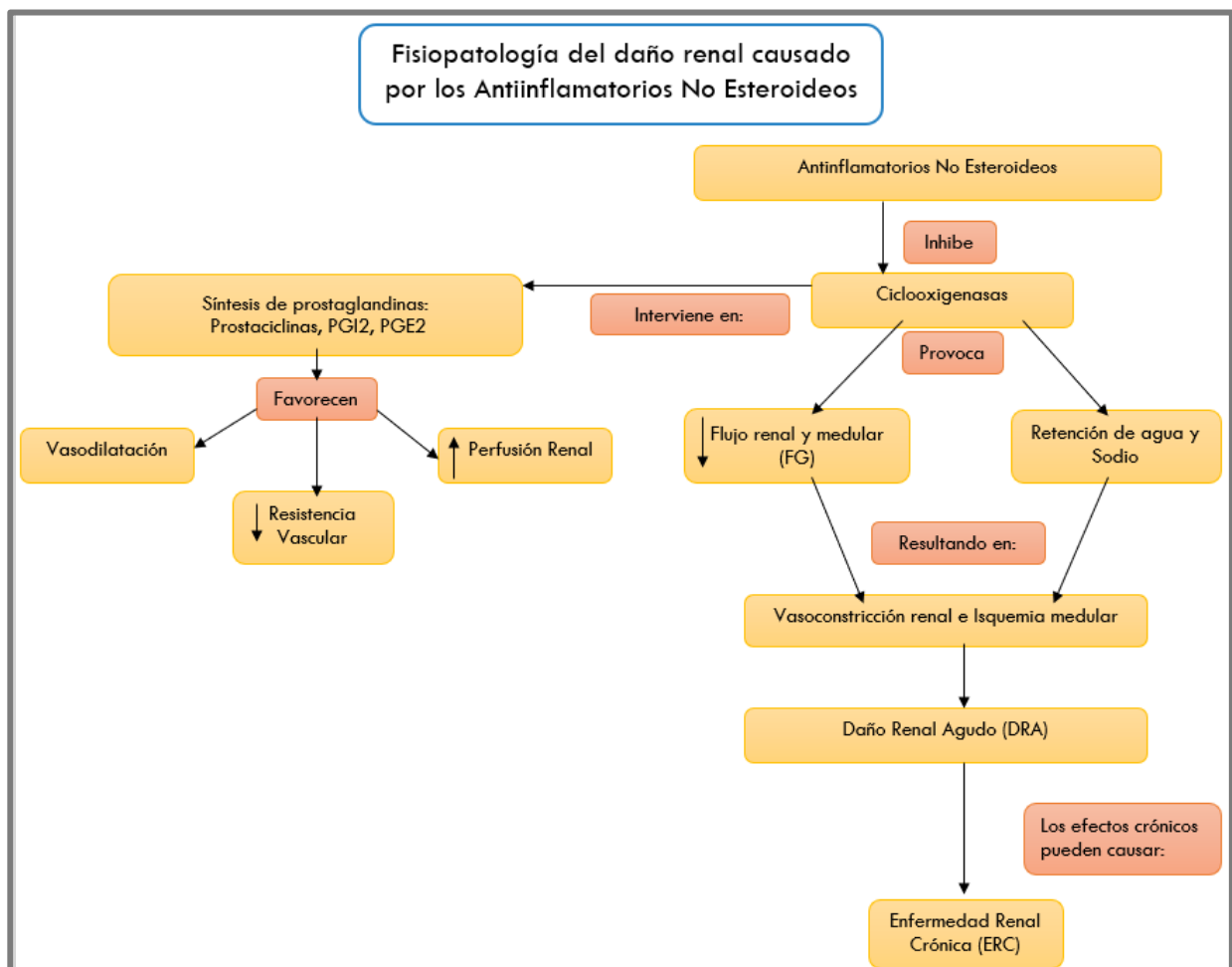


Figura 9. Fisiopatología del daño renal inducido por AINEs. (Adaptada de Lucas y cols., 2019) FG: filtrado glomerular; PGE2: prostaglandina E2; PGI2: prostaglandina I2.

5.2 Principales fármacos antihipertensivos que actúan sobre el SRAA

5.2.1 Inhibidores de la enzima convertidora de angiotensina (IECAs)

Los IECAs son fármacos muy utilizados en el tratamiento de la HTA, realizan su efecto antihipertensivo al bloquear la unión de la AngI con la ECA impidiendo la formación de la AngII (Izzo y Weir, 2011). Esto se traduce en una disminución de sus acciones fisiológicas y favorece la vasodilatación. Igualmente reducen la volemia al no reabsorber Na^+ y agua por la falta de secreción de la aldosterona. Los IECAs inhiben la cinasa II que degrada la bradiquinina, potenciando su producción plasmática y tisular que favorecen la liberación de ON (vasodilatador) y PGs. Los IECAs tienen efectos antiproliferativos que antagonizan las acciones de la AngII. Como consecuencia se producen acciones vasodilatadoras arteriovenosas, natriuréticas y antimitogénicas (de Kloet y cols., 2010; Flores y cols., 2014; Horning y cols., 1997; Izzo y Weir, 2011; Mirabito Colafella y cols., 2019; Rossier y cols., 2017). Estos fármacos son utilizados ampliamente por sus efectos beneficiosos en la prevención de las complicaciones que produce la HTA a nivel cardiovascular, renal y cerebrovascular (Bhagwan Dass y cols., 2019; de Kloet y cols., 2010; Mirabito Colafella y cols., 2019; Rosendorff y cols., 2015; Rossier y cols., 2017). Su uso también está establecido en la prevención del infarto agudo de miocardio, en el tratamiento de la IC, en la ERC y en los pacientes con DM, ya que pueden reducir la mortalidad (Drawz y Ghazi, 2017; Izzo y Weir, 2011; Mancia y cols., 2013).

Dentro de los fármacos de este grupo destaca el captopril, que fue el primero en utilizarse para el tratamiento de la HTA en 1981, y luego se asoció al tratamiento de las enfermedades cardiovasculares (Messerli y cols., 2018). Posteriormente se han desarrollado numerosos fármacos como el lisinopril, enalapril, trandolapril, ramipril, entre otros (Hermida y cols., 2013). Cabe destacar los efectos adversos de este grupo, como el angioedema y la tos seca, producidos por el aumento de las bradiquininas (Hermida y cols., 2013; Marceau y cols., 2020; Messerli y cols., 2018; Rivera y cols., 2013; Rodrigo y Herbert, 2018), lo cual es causa de abandono del tratamiento en numerosas ocasiones. Por otro lado, estos fármacos están contraindicados para tratar la HTA en pacientes embarazadas, en caso de hiperpotasemia, angioedema y en la estenosis bilateral de la arteria renal (Mancia y cols., 2013).

5.2.2 Antagonistas de los receptores de la angiotensina II (ARAII)

Los ARAII representan un arsenal terapéutico muy usado en la clínica para el control de la HTA. Actúan uniéndose al receptor AT1 que participa en la regulación de la PA y de la función renal (Michel y cols., 2013). El primer fármaco utilizado de este grupo fue el losartán (Michel y cols., 2013), pero actualmente existen ocho fármacos aprobados por la Administración de Alimentos y Medicamentos de los Estados Unidos (FDA) para uso clínico: olmesartán, losartán, candesartán, irbesartán, valsartán y azilsartán derivados de bifenil tetrazol; así como el eprosartán y telmisartán denominados no bifenil tetrazol (Hermida y cols., 2013; Michel y cols., 2013; Singh y Karnik, 2019). Cuando estos fármacos se unen al receptor AT1 realizan numerosas acciones como: limitar la vasoconstricción, la actividad simpática, la proliferación celular y la retención de agua y Na⁺, acciones que son mediadas por la AngII cuando se une a este receptor (Messerli y cols., 2018). Al igual que los IECAs, los ARAII son eficaces en la prevención de eventos cardiovasculares y renales (Izzo y Weir, 2011). En los pacientes diabéticos favorecen la sensibilización a la insulina, presentan acción antiinflamatoria, así como antiateroesclerótica en la nefropatía diabética y actúan como renoprotectores (Arumugam y cols., 2016). A diferencia de lo observado con el uso de los IECAs, los ARAII solo impiden la unión de la AngII al receptor AT1, lo que permite que esta se una al receptor AT2, lo cual favorece la natriuresis y aumenta la vasodilatación (Assersen y cols., 2020; Messerli y cols., 2018), y promueve acciones antifibróticas y antiinflamatorias a nivel renal, que son mediadas a través de la liberación del ON, de la prostaglandina E1 (PGE1) y de la prostaglandina I1 (PGI1) (Flores y cols., 2014; Te Riet y cols., 2015). Sin embargo, los efectos adversos asociados a las bradiquininas como la tos, el angioedema y la secreción de PGs son clínicamente menos importantes que las observadas con el uso de los IECAs, de igual modo ambos grupos farmacológicos no presentan diferencias clínicas en cuanto al control de la PA (Messerli y cols., 2018). Pero, los ARAII presentan las mismas contraindicaciones que los IECAs (Mancia y cols., 2013).

5.2.3 Efectos de IECAs y ARAII sobre el sistema renal

Los IECAs y los ARAII, como hemos visto anteriormente, son fármacos bien conocidos y usados de manera habitual para tratar la HTA; con muy buenos resultados en los pacientes hipertensos con DM, ya que pueden reducir los niveles de proteinuria, puesto que esta última está asociada con el avance de la ERC. Además, estos fármacos reducen los eventos renales en pacientes con DM, HTA y albuminuria (Leon y Tangri, 2019). Sin embargo, con el uso de los IECAs/ARAI se observa un aumento de los niveles de renina, ya que esta intenta contrarrestar el bloqueo del SRAA, y pueden aumentar los niveles de AngI y AngII. Igualmente, aproximadamente entre el 40-50 % de los pacientes al tiempo de iniciar el tratamiento con los IECAs/ARAI alcanzan niveles de aldosterona igual a los presentados antes de su uso, contrarrestando la acción hipotensora a través de la reabsorción de Na⁺ y agua, promoviendo el remodelado y la fibrosis (Mirabito y cols., 2019). Pero, independientemente de sus beneficios farmacológicos tanto los IECAs como los ARAII se encuentran entre las causas de DRA prerrenal (Bellomo y cols., 2012; Farrar, 2018). Estos fármacos alteran los mecanismos adaptativos renales (Peregrín y cols., 2019), generando una disminución de la perfusión renal (Moore y cols., 2018), que altera la hemodinámica renal (Lameire y cols., 2005) por la vasodilatación sistémica que produce su acción hipotensora (Makris y Spanou, 2016). En definitiva, los IECAs y los ARAII disminuyen el tono de la arteriola eferente, la presión capilar glomerular y el FG (Izzo y Weir, 2011; Wetmore y cols., 2015).

Es común que tras iniciar el tratamiento con estos fármacos se observe un aumento moderado de la CrP, pero estas elevaciones no son uniformes y podrían estar influenciadas por situaciones como la edad avanzada, la ERC (particularmente en la etapa 4), DM avanzada, estenosis de la arteria renal, IC o que hayan sufrido diuresis significativa (Izzo y Weir, 2011). Es infrecuente, aunque no excepcional, que los aumentos de creatinina se mantengan durante más de un mes o que ocurran posteriormente.

No obstante, la detección del DRA en pacientes tratados con fármacos que bloquean el SRAA siempre obliga a descartar estenosis de las arterias renales. Por el contrario, si no existe una estenosis, las causas de DRA podrían ser la deshidratación, dosis altas de diuréticos, la IC congestiva y la toma de AINEs u otros fármacos vasoconstrictores (Albaladejo Blanco y cols.,

2009; Izzo y Weir, 2011; Leon y Tangri, 2019). Diferentes estudios demuestran que el uso combinado de los IECAs/ARAII con otros fármacos está asociado al DRA, puesto que pacientes que usaron diuréticos e IECAs/ARAII en la urgencia, mantuvieron el riesgo de DRA aún después del alta hospitalaria (Hinson y cols., 2020). También el riesgo de DRA es elevado en pacientes tratados con AINEs e IECAs/ARAII al mismo tiempo (Dreischulte y cols., 2015). Un metaanálisis, aunque no de forma concluyente, sugirió que los ARAII producen un efecto nocivo en el DRA inducido por medios de contraste, pero no así cuando se usan los IECAs (Peng y cols., 2015). Por tal razón, a pesar de sus efectos terapéuticos beneficiosos para los pacientes con HTA y otras enfermedades como la DM, los efectos negativos sobre el riñón de los IECAs y de los ARAII son evidentes, lo que hace necesario un uso cuidadoso de estos fármacos sobre todo cuando se utilizan en combinación con los AINEs y los diuréticos, los cuales también actúan a nivel renal.

Tabla 3. Efectos de los fármacos antihipertensivos en los componentes del SRAA (Adaptada de Goodman y Gilman, 2012).

	IECAs	ARAII	Diuréticos
Concentración de renina plasmática (CRP)	↑	↑	↑
Actividad de renina plasmática (ARP)	↑	↑	↑
Angiotensina I	↑	↑	↑
Angiotensina II	↓	↑	↑
Enzima convertidora de Angiotensina (ECA)	↓	↔	
Bradiquinina	↑	↔	
Receptores AT1	↔	Inhibición	
Receptores AT2	↔	Estimulación	

5.3 Diuréticos sobre el sistema renal

Los diuréticos son un grupo de fármacos ampliamente recomendados por diferentes guías para el tratamiento de la HTA (Blowey, 2016). Es un grupo heterogéneo de medicamentos con muchas similitudes, salvo algunas excepciones como el manitol y los antagonistas de la ADH.

Todos los diuréticos funcionan inicialmente al bloquear la reabsorción de Na^+ en varios sitios dentro de los túbulos renales, y se clasifican en diferentes subgrupos: inhibidores de la anhidrasa carbónica, diuréticos de asa, diuréticos tiazídicos y diuréticos osmóticos. En contraste, los antagonistas de la aldosterona alcanzan su sitio de acción en las células principales del túbulo colector cortical (Roush y cols., 2014).

Mecanismo de acción de los diuréticos (Roush y cols., 2014):

- Dentro de los diuréticos osmóticos se encuentra el manitol que ejerce su efecto osmótico a lo largo del túbulo renal independientemente del estado de hidratación y perjudica la reabsorción normal del agua tubular.
- Los antagonistas del receptor de ADH bloquean la unión de la ADH con el receptor V2 y evitan la reabsorción de agua libre en los túbulos colectores, lo que aumenta la excreción de agua libre.
- El inhibidor de la anhidrasa carbónica (acetazolamida) impide la reabsorción de Na^+ , bicarbonato y agua, aumentando la liberación Na^+ al túbulo colector distal y favorece la pérdida de K^+ (Roush y cols., 2014).
- Diuréticos del asa: furosemida, torasemida, azosemida y la bumetanida actúan en la rama ascendente gruesa del asa de Henle, donde se reabsorbe del 20 % al 30 % del NaCl filtrado. Los diuréticos de asa se unen a la proteína de transporte Na-K-2Cl e inhiben su acción, impidiendo la reabsorción de Na^+ , K^+ y Cl^- . Aumentan el Na^+ en el túbulo distal y favorecen el intercambio de Na^+ por K^+ , promoviendo la secreción de K^+ en el túbulo distal.
- La tiazida y los diuréticos relacionados actúan principalmente en el túbulo distal, bloqueando el cotransportador de Na-Cl , como resultado disminuye la reabsorción de Na^+ y Cl^- . Por tanto, aumenta el Na^+ que llega a los túbulos colectores y favorece la pérdida de K^+ .

- Los diuréticos ahorradores de K^+ actúan en el túbulo colector cortical y se pueden dividir en 2 subcategorías: los análogos de pteridina (es decir, triamtereno y amilorida) que inhiben la reabsorción por el canal epitelial de Na^+ del túbulo colector; y los bloqueadores del receptor de aldosterona (espironolactona y eplerenona) que actúan en el citoplasma de las células principales para regular negativamente la bomba basolateral de Na^+/K^+ sensible a la aldosterona. El efecto final de ambas subcategorías es la disminución de la reabsorción de Na^+ junto con la disminución de la secreción de K^+ e hidrogeniones.

5.3.1 Efectos de los diuréticos

Los efectos de los diuréticos sobre el riñón causan cierto grado de contracción de volumen y, por tanto, favorece la activación de la renina plasmática, AngII y la aldosterona con todas sus repercusiones hemodinámicas (Boron y Boulpaep, 2017). Cabe destacar las numerosas alteraciones electrolíticas que pueden producir desde: hipovolemia, hiponatremia, hipopotasemia e hipomagnesemia.

La hipopotasemia y la hipomagnesemia pueden desencadenar arritmias cardíacas mortales en pacientes con IC. También, algunos diuréticos como los tiazídicos y los de asa pueden empeorar la función renal, ya que favorecen una pérdida hidrosalina excesiva, que se asocia con hipotensión arterial disminuyendo la perfusión renal y facilitando la aparición de DRA (Flores y cols., 2014). Los diuréticos pueden provocar cambios en el flujo renal secundariamente a su acción sobre las PGs intrarrenales, al estimular su síntesis a nivel intrarrenal o al inhibir su catabolismo, lo que favorece su función vasodilatadora dentro del riñón (Wang y cols., 2012). Por eso los AINEs, que inhiben la síntesis de PGs, pueden antagonizar parcialmente la acción diurética al inhibir la actividad vascular.

Los efectos de los diuréticos sobre el riñón sumados a los efectos de los fármacos más usados para tratar la HTA se relacionan con el DRA. Se ha visto que la combinación de diuréticos de tipo asa como la furosemida con un IECA (enalapril), se asocia con la aparición de DRA (Fabiano y cols., 2016), así mismo la furosemida con sus efectos sobre la hemodinámica, favorece la disminución de la perfusión renal aumentando el riesgo de DRA (Wang y cols., 2012). Por tal razón, los diuréticos en combinación con IECAs/ARAII y AINEs en triple terapia pueden

aumentar la probabilidad de que ocurra un DRA en diferentes poblaciones de riesgo (Gambaro y Perazella, 2003; Gomelsky y cols., 2020; Lucas y cols., 2019; Mansfield y cols., 2016; Prieto-García y cols., 2016; Ruedinger y cols., 2012), lo que hace necesaria una vigilancia sobre estos pacientes y una evaluación del riesgo de desarrollar DRA con el uso de terapias combinadas, intentado ajustar las dosis de acuerdo a la situación de cada paciente.

Tabla 4. Diuréticos, sus indicaciones y efectos adversos (Roush y cols., 2014) ADH: hormona antidiurética; FG: filtrado glomerular; LDL: lipoproteína de baja densidad; SIADH: síndrome de secreción inadecuada de la hormona antidiurética.

Diurético	Uso clínico	Reacciones Adversas
Diuréticos de Asa (Furosemida, torasemida, Bumetanida, etc.)	Edemas: Insuficiencia cardíaca congestiva, cirrosis hepática, síndrome nefrótico, hipertensión con FG <30 ml/min, hipercalcemia, SIADH, acidosis tubular renal, etc.	Disminución de volumen sanguíneo, disminución sérica de K ⁺ , Na ⁺ , Mg ⁺ e H ⁺ . Incremento de ácido úrico, glucosa, colesterol, LDL, triglicéridos. Nefritis intersticial.
Tiazídicos (Hidroclorotiazida, clorotiazida, etc.)	Diabetes insípida nefrogénica, edema ligero, litiasis renal de calcio. Hipertensión e hipertensión resistente (Clortalidona e indapamida).	Hipotensión ortostática. Disminución sérica de K ⁺ , Na ⁺ , Mg ⁺ e H ⁺ . Incremento de ácido úrico, glucosa, colesterol, LDL, triglicéridos. Nefritis intersticial. Disfunción eréctil, impotencia y acumulación de litio.
Ahorradores de potasio (Triantereno, amilorida)	Hipertensión con pérdida de K ⁺ o Mg ⁺ , síndrome de Liddle.	Incremento de K ⁺ , Cl ⁻ , H ⁺ . Triantereno y amilorida: erupción cutánea, náusea y flatulencia. Triantereno: nefrolitiasis.
Antagonista de la aldosterona (Espironolactona y eplerenona)	Hipertensión perdida de K ⁺ o Mg ⁺ , hipertensión resistente, aldosteronismo primario, insuficiencia cardíaca congestiva.	Ginecomastia, disminución de la libido masculina por espironolactona.
Inhibidores de la anhidrasa carbónica (Acetazolamida)	Glaucoma, alcalosis metabólica, mal de altura, resistencia a diuréticos.	Disminución del volumen hídrico, hipocalemia, acidosis metabólica hiperclorémica, parestesia, debilidad.
Osmótico (Manitol)	Edema cerebral.	Disminución del volumen hídrico, K ⁺ e H ⁺ . Insuficiencia cardíaca congestiva, náusea, vómito, fiebre, confusión y letargia.
Antagonista de la ADH	Uso a corto plazo en hiponatremia euvolémica, hipervolemia hiponatrémica, SIADH.	Aumento de la sed, sequedad de la boca, hipocalemia, hipernatremia.

6. Factores que favorecen el daño renal agudo

Existen numerosos factores de riesgo que pueden favorecer el DRA, los cuales determinan la aparición de numerosas complicaciones, siendo necesario identificarlos preferiblemente de forma precoz para estratificar a la población y, conocer los pacientes con mayores posibilidades de sufrir un DRA. Dentro de los factores de riesgo más importantes se encuentra: la edad avanzada, la deshidratación, la HTA, la DM, y el uso de fármacos nefrotóxicos, entre otros.

6.1 Edad

Dentro de las condiciones predisponentes más importantes para sufrir un DRA se encuentra el envejecimiento, puesto que la mayoría de los pacientes afectados superan los 65 años (Melo y cols., 2020), siendo el DRA prerrenal el más frecuente debido a la hipoperfusión renal (Lameire y cols., 1999; Ostuni y Musso, 2019). Esto se fundamenta por estudios realizados con pacientes mayores de 90 años, donde se evidenció que el 45 % de los hospitalizados padecieron un DRA, y presentaron una mayor estancia hospitalaria, con necesidad de cuidados intensivos, así como el uso de vasopresores y ventilación mecánica (Sousa y cols., 2020). Esto se debe a que, en esta edad, los pacientes suelen presentar una disminución del flujo plasmático renal, acompañado de un aumento de la resistencia vascular renal en la arteriola aferente, que resulta en un incremento de la presión glomerular y que desafortunadamente favorece la hiperfiltración que daña los capilares glomerulares. Igualmente, en los pacientes mayores la función glomerular está disminuida, las reservas funcionales están reducidas y hay una limitación en la capacidad de adaptación en condiciones extremas o durante grandes demandas (Gekle, 2017). Los cambios estructurales que ocurren en el glomérulo incluyendo la esclerosis de los capilares, la hipertrofia de los podocitos, el engrosamiento glomerular y la expansión mesangial, contribuyen a una reducción de la filtración glomerular, y al aumento de la excreción de proteínas (Martin y Sheaff, 2007).

6.2 Deshidratación

La deshidratación es la pérdida excesiva de agua con o sin Na^+ , el cual es un complejo problema con numerosos efectos adversos sobre la salud, asociada a una reducción de la calidad de vida, ingresos hospitalarios, aumento del costo en atención sanitaria y aumento de la mortalidad (Paulis y cols., 2020). Esto se ve reflejado en los pacientes más envejecidos, donde se observa un riesgo mayor de sufrir deshidratación debido a la pérdida de la sensación de sed, lo que favorece la disminución de la ingesta, y a un aumento en la pérdida de agua (Jéquier y Constant, 2010) que puede ser causada por: diarreas, vómitos, sangrados, glucosuria o el uso de diuréticos. Como consecuencia, la deshidratación está presente en el 1 % de las causas de DRA por la hipovolemia que produce en pacientes mayores admitidos en centros hospitalarios (Lameire y cols., 1999). A esto se añade que los pacientes mayores presentan una disminución del flujo plasmático renal y de la TFG, que favorece la reabsorción pasiva de líquido aumentando el riesgo de sobrecarga hídrica e hiponatremia; pero, independientemente a lo anterior, por norma general, el riñón envejecido es más propenso a perder Na^+ y es incapaz de conservarlo de manera eficaz bajo condiciones de presión. Los factores implicados en este fenómeno incluyen los efectos que produce la edad sobre el PNA, el SRAA y sobre la función tubular renal (Koch y Fulop, 2017).

En los pacientes mayores, se pierde la capacidad de concentración de la orina concomitando con una relativa resistencia a la acción de la ADH, a pesar de tener concentraciones más elevadas que las observadas en pacientes jóvenes. Junto con esto se observa una disminución de la actividad de la renina, y menor acción de la aldosterona, que combinadas, aumentan el riesgo de deshidratación (Jéquier y Constant, 2010; Koch y Fulop, 2017). De igual modo se ha podido constatar que el uso de fármacos que actúan sobre el SRAA y los diuréticos, favorecen en los pacientes envejecidos la aparición de eventos graves como son: desórdenes metabólicos, electrolíticos y endocrinos, DRA, y eventos agudos cardiovasculares. Además, los diuréticos favorecen y agravan la deshidratación por lo que se recomienda el uso de estos fármacos con precaución (Ruedinger y cols., 2012).

6.3 Otras comorbilidades

Existen numerosas causas de DRA (Tabla 2), pero al envejecimiento se deben sumar las comorbilidades como la DM, ERC y por supuesto, la HTA. Estas enfermedades requieren el uso de medicamentos que estresan y alteran la hemodinámica renal o simplemente son nefrotóxicos (Makris y Spanou, 2016). La activación de la actividad simpática es un determinante importante del pronóstico de la HTA, que favorece la aparición de complicaciones en el estado hipertensivo, como la IC, la ERC, el infarto agudo de miocardio, y los eventos cerebrovasculares trombóticos o isquémicos. Esto nos dice que la HTA esencial, con su activación adrenérgica, tiene un impacto adverso en el pronóstico del paciente (Grassi y cols., 2012). Así mismo existen diferentes mecanismos subyacentes específicos de la HTA que incluyen: cambios hemodinámicos, aumento de la rigidez arterial, desregulación neuro-hormonal y del SNA, así como el envejecimiento del riñón (Oliveros y cols., 2020), que combinados con los otros aspectos antes mencionados favorecerán la aparición de DRA. Por ello, el manejo farmacológico de la HTA en pacientes envejecidos (Nilsson, 2017), deshidratados (Ruedinger y cols., 2012) y con otras comorbilidades, debe ser realizado con cautela, evaluando los riesgos existentes de forma individual, intentando disminuir la probabilidad de desencadenar un DRA.

7. Métodos diagnósticos del daño renal agudo

Actualmente el diagnóstico del DRA se basa en los criterios descritos en la tabla 1, donde los valores de la CrP y la diuresis son los elementos utilizados para determinar el estadio o la evolución en que se encuentra un paciente con DRA. El diagnóstico de DRA conlleva el estudio de analíticas clínicas que nos permiten estimar la función renal. También es necesario estudiar la composición de la orina e incluir los estudios de imagen (Avendaño, 2009). Pero actualmente se busca incorporar nuevas herramientas en el diagnóstico del DRA, debido a las limitaciones existentes, como es el uso de biomarcadores (enumerados más adelante en la Tabla 6) más específicos, que permitan hacer una detección más temprana y establecer un pronóstico más adecuado en los pacientes que padecen esta enfermedad.

7.1 Estudio de la función renal

La determinación de la función renal se realiza por la estimación de la filtración glomerular. La sustancia más utilizada en la clínica para esa estimación es la creatinina, la cual es una molécula endógena de 113 kDa (Edelstein, 2017), producida por el metabolismo del músculo esquelético y cuyos valores se mantienen constantes. Aunque no es la sustancia más ideal, su aclaramiento es el que más se aproxima al FG, ya que su eliminación es casi exclusivamente renal, y el aumento de los niveles plasmáticos de creatinina indican una disminución del FG (Avendaño, 2009).

A pesar de que las elevaciones de la CrP se utilizan rutinariamente para diagnosticar clínicamente el DRA junto con los cambios en la producción de orina, se sabe que esta medida de laboratorio es un marcador poco fiable de disfunción renal en la mayoría de los pacientes, debido a que se producen fluctuaciones en su producción incluso en sujetos sanos, ya que su valor puede variar dependiendo del peso, sexo, raza y edad, sobre todo en pacientes ancianos y frágiles (Andreucci y cols., 2017; Haase y cols., 2011). Como consecuencia, un paciente anciano puede tener un DRA con valores absolutos bajos de creatinina, que oculta el diagnóstico y retrasa el tratamiento temprano (Ostuni y Musso, 2019). Por otro lado, la CrP solo aumenta 24-48 horas después del evento lesivo renal, dado que la TFG debe reducirse aproximadamente a la mitad de su valor normal antes de que la concentración de CrP comience a elevarse por encima de su límite superior normal. Además, no permite determinar la hemodinámica que diferencia al DRA prerrenal entre el parenquimatoso y la nefropatía obstructiva (Andreucci y cols., 2017).

Para minimizar los problemas relacionados con las características físicas del paciente, se utiliza la tasa de filtración glomerular estimada (TFGe), calculada por la fórmula MDRD: *Modification of Diet in Renal Disease* (Modificación de la dieta en la enfermedad renal) o por la CKD-EPI: *Chronic Kidney Disease- Epidemiology Collaboration* (Enfermedad renal crónica-Colaboración epidemiológica), o mediante la fórmula de Cockcroft-Gault. Sin duda, tanto la fórmula MDRD como la CKD-EPI, son más precisas que la fórmula de Cockcroft-Gault, y son las más usadas en el ámbito de la investigación médica, pero la última es la más utilizada en la práctica clínica, especialmente cuando no necesitamos un valor de la TFG extremadamente preciso, porque es fácil de memorizar y sencilla de calcular sin la necesidad de una calculadora (Andreucci y cols., 2017; Emeigh Hart, 2005):

Ecuación de *Cockcroft y Gault*:

$$\text{TFGe} = \frac{(140 - \text{Edad}) \times \text{Peso (kg)}}{72 \times \text{CrP (mg/dL)}} \quad \times (0,85 \text{ si es mujer})$$

Por otro lado, la urea es el principal producto final del catabolismo proteico. Se sintetiza exclusivamente en el hígado a partir del amoníaco y del dióxido de carbono por las enzimas del ciclo de la urea y se libera al plasma, y posteriormente se excreta predominantemente (> 90 %) a través del riñón. La urea se filtra libremente en el glomérulo, pero también se difunde libremente fuera del túbulo y una cantidad muy variable pero significativa (40 a 70 %) vuelve a entrar en el líquido extracelular y finalmente termina en el plasma. El grado de reabsorción de urea es en general inversamente proporcional a la TFG (Emeigh Hart, 2005; Vaidya y cols., 2008a). La medida de urea se hace a través de la determinación del BUN, un marcador usado en el DRA, pero al igual que la creatinina, el BUN es subóptimo para el diagnóstico del DRA ya que también depende de factores no renales independientes a la función renal; por ejemplo, la ingesta de proteínas, el propio estado catabólico, la hemorragia digestiva alta, la volemia y algunas terapias con dosis altas de esteroides. Por lo tanto, las alteraciones de la CrP y del BUN en el DRA no son particularmente sensibles o específicas para diagnosticar pequeños cambios en la TFG (Edelstein, 2017).

Los criterios diagnósticos del DRA (Tabla 1) también incluyen el volumen de diuresis, ya que los signos clínicos del DRA isquémico/nefrotóxico pueden ir desde la oliguria, secundaria a la caída de la TFG, hasta llegar a la anuria. Así mismo, en el estudio de sangre se puede encontrar: hiponatremia, acidosis metabólica, hiperpotasemia, hipocalcemia, hiperfosfatemia, y anemia. De igual modo, es importante el estudio de iones como el Na^+ , que permite estimar la excreción fraccional de Na^+ (EFNa), necesaria para determinar los criterios de funcionalidad del DRA, ya que en el DRA prerrenal (funcional) los túbulos renales están intactos y funcionan adecuadamente, permitiendo la reabsorción de este ion (Andreucci y cols., 2017; Vaidya y cols., 2008a).

Cuando el valor de la EFNa es <1,0 % podemos descartar un daño tubular y por ende la reabsorción no se encuentra alterada, lo que indica que el DRA es funcional o prerrenal. Como

resultado habrá oliguria y la orina tendrá una concentración de Na^+ baja (generalmente <20 mEq/L) con sedimento normal (Andreucci y cols., 2017).

Los marcadores tradicionales de daño renal en sangre (creatinina, BUN), así como los resultados encontrados en el análisis de orina (células epiteliales, cilindros tubulares, EFNa y la capacidad de concentración urinaria, etc.) son pocos sensibles e inespecíficos para el diagnóstico del DRA (Vaidya y cols., 2008a).

Tabla 5. Parámetros de funcionalidad en el daño renal agudo (Peregrín y cols., 2019).

Daño renal agudo (DRA)	Funcional (prerrenal)	Establecida (parenquimatosa)
Na^+ en orina (Na_o)	<20 mEq/l	> 20 mEq/l
Cociente Na/K orina	$\text{K}^+ > \text{Na}^+$	$\text{Na}^+ > \text{K}^+$
Osmolaridad orina	>500 mOs/Kg	<350 mOs/Kg
EFNa (%)	<1 %	$> 1-2$ %
CrU/CrP	> 40	< 20
IFR (%)	<1 %	> 1 %

CrU: creatinina urinaria; CrP: creatinina plasmática; EFNa: excreción fraccional de Na^+ ; $\text{EFNa} = [\text{NaU} * \text{CrP}/\text{NaP} * \text{CrU}] * 100$; IFR: índice de fallo renal, $\text{IFR} = \text{CrP}/(\text{NaP} * \text{CrU})$.

7.2 Estudios de imagen

Los estudios de imagen tienen un papel fundamental en el diagnóstico diferencial del DRA. A través de estas técnicas podemos hacer una evaluación de los riñones observando su tamaño y contorno, las características del árbol vascular del enfermo y su patrón de perfusión, así como valorar posibles problemas obstructivos de las vías urinarias (Avendaño, 2009). A través de la ecografía se puede identificar un aumento de la ecogenicidad en el DRA parenquimatoso (Avendaño, 2009) y al mismo tiempo se puede diagnosticar el DRA producido por mecanismos obstructivos (Hain y Paixao, 2015; Monedero y cols., 2011; Peregrín y cols., 2019). Así mismo,

con la ecografía Doppler se puede obtener información de las arterias y venas renales de manera incruenta que nos habla del estado de la perfusión renal (Avendaño, 2009; Ostuni y Musso, 2019); de igual manera el uso de la ecografía es útil para realizar la biopsia renal, necesaria ante la sospecha de DRA por glomerulonefritis, pero está contraindicada en pacientes que presentan hemorragias o HTA no controlada (Commereuc y cols., 2014; Ostuni y Musso, 2019).

Los nuevos métodos de imágenes diagnósticas como la resonancia magnética nuclear (RMN) y los estudios angiográficos son muy útiles para el diagnóstico del DRA, pues permiten identificar alteraciones en la hemodinámica intrarrenal, el nivel y el grado de extensión de la disfunción tubular proximal e identificar la presencia de inflamación renal (Monedero y cols., 2011). Es más fácil detectar cuadros obstructivos y otras alteraciones que con la ecografía renal, pero previamente a la realización de los estudios angiográficos y otros estudios que necesiten medios de contraste, se debe valorar el riesgo nefrotóxico rigurosamente (Avendaño, 2009).

7.3 Nuevas estrategias diagnósticas del DRA

Independientemente de la causa que provoca el DRA existe una disminución progresiva de la TFG, por lo cual, es importante llegar al diagnóstico de forma precoz para instaurar el tratamiento lo antes posible y preservar la función renal. Actualmente el criterio diagnóstico se sigue basando en los valores de CrP o en la disminución de la diuresis (o ambas cosas), pero la medida de la CrP es poco fiable para el diagnóstico de daño renal en la mayoría de los pacientes y sobre todo en los ancianos (Hain y Paixao, 2015; Ostuni y Musso, 2019). Debido a que existe un desfase temporal entre la aparición de las primeras lesiones renales (por el reclutamiento de la reserva funcional renal) y el aumento de la CrP, se hace necesaria la búsqueda de biomarcadores urinarios específicos del DRA que permitan orientar el diagnóstico precoz y el tratamiento (Commereuc y cols., 2014; Monedero y cols., 2011).

El objetivo con estos biomarcadores es identificar oportunamente el DRA y con ello mejorar el tratamiento (Weiss y cols., 2019). Además, se busca lograr un diagnóstico más preciso debido a que se pueden relacionar algunos biomarcadores con características específicas del DRA, y pueden demostrar perfiles dependientes del tiempo que reflejan la patología del daño (Basu, 2020; Nadkarni y cols., 2017). Los estudios han enfatizado que muchos biomarcadores nuevos son

superiores a los marcadores convencionales para el diagnóstico temprano, para determinar el pronóstico y en la estimación de la mortalidad a largo plazo. En los últimos años se ha incluido en el diagnóstico clínico y bioquímico del DRA diferentes biomarcadores que han aportado numerosos beneficios adicionales, demostrado por los estudios realizados en miles de pacientes. Por ejemplo, el producto TIMP-2 (inhibidor tisular de metaloproteinasas) e IGFBP7 (factor de crecimiento insulínico tipo 7) predijo el DRA de moderado a grave con un 92 % de precisión (Bihorac y Kellum, 2015; Meersch y cols., 2014; Ronco y cols., 2012; Weiss y cols., 2019). Los biomarcadores son cada vez más fiables en términos de especificidad y sensibilidad, y existen ensayos para su identificación con una alta sensibilidad y un amplio rango de detección, lo cual ha mejorado la capacidad de detección del daño por debajo de los valores del corte anteriormente establecidos (Ronco y cols., 2012). Muchos de los nuevos biomarcadores de lesión se liberan en los túbulos, marcando el lugar más probable de la misma. Esto nos permite sacar conclusiones sobre diversos mecanismos de lesión y sobre los aspectos de la función renal. De igual forma, los biomarcadores se pueden clasificar en biomarcadores inflamatorios como el caso de NGAL (lipocalina asociada a gelatinasa de neutrófilos), IL-6, IL-18 (interleucina 6 e interleucina 18); biomarcadores de daño renal como es KIM-1 (molécula de daño renal) y L-FABP (proteína hepática fijadora de ácidos grasos); así como aquellos biomarcadores que se relacionan con la detención del ciclo celular: TIMP-2 o IGFBP-7. Aparte de estos biomarcadores antes mencionados, también existe otro gran número que pueden incluirse en los grupos antes mencionados, como el caso de la cistatina C, NAG (N-acetil- β -D-glucosaminidasa), entre otros (Andreucci y cols., 2017; Basu, 2020; Doi y cols., 2012; Edelstein, 2017; Emeigh Hart, 2005; Forni y cols., 2017; Gomelsky y cols., 2020; Luft, 2020; Malhotra y Siew, 2017; D. Marx y cols., 2018; Vaidya y cols., 2008a), los cuales pueden determinarse de forma económica mediante procedimientos de laboratorio rutinarios (Weiss y cols., 2019). Los principales biomarcadores usados en el diagnóstico del DRA se resumen junto a los antes mencionados en la tabla 6.

Tabla 6. Resumen de los principales biomarcadores de daño renal (Andreucci y cols., 2017; Apausa Cuesta, 2019; Blanco-Gozaño, 2017; Edelstein, 2017; Emeigh Hart, 2005; Forni y cols., 2017; Gaião y De Carvalho Paiva, 2017; Gomelsky y cols., 2020; Luft, 2020; Malhotra y Siew, 2017; Marx y cols., 2018; Vaidya y cols., 2008).

Biomarcador	Ubicación del daño	Determinación	Función
Angiotensinógeno	Daño Túbulo Proximal	Orina	Sustrato de la renina en el SRAA, para la regulación de la PA
Cistatina C	Funcional-Tubular Proximal	Orina y suero	Inhibidor de proteasa
Clusterina	Daño Túbulo Proximal-Distal	Orina	Antiapoptótica y promueve supervivencia celular
IGFBP7	Detención del ciclo celular	Orina	Aumento de p53 y p21 Detiene ciclo celular
IL-18	Daño Túbulo Proximal	Orina y suero	Sobrerregulación en el DRA isquémico, Proinflamatoria Promueve apoptosis y necrosis
KIM-1	Daño Túbulo Proximal	Orina	Promueve apoptosis, eliminación de células necróticas, remodelación del epitelio dañado
L-FABP	Daño Túbulo Proximal	Orina	Protección frente a especies reactivas de oxígeno, sobreexpresión durante el daño por isquemia reperusión

NAG	Daño Túbulo Proximal	Orina	Enzima lisosómica del túbulo proximal, cataliza la hidrólisis de los enlaces glucosídicos
NGAL	Daño Túbulo Distal, Colector, Proximal	Orina y suero	Previene la formación de radicales de hidroxilo Promueve la supervivencia de las células tubulares
PAI-1	Daño Túbulo Proximal	Orina y suero	Inhibidor de la fibrólisis
TIMP-2	Detención del ciclo celular	Orina	Aumento de p53 y p21 Detiene el ciclo celular

DRA: daño renal agudo; IGFBP-7: factor de crecimiento insulínico tipo 7; IL-18: Interleucina 18; KIM-1: molécula de daño renal 1; L-FABP-1: proteína hepática fijadora de ácidos grasos; NAG: N-acetyl- β -D-glucosaminidasa; NGAL: lipocalina asociada a la gelatinasa de neutrófilos; PA: presión arterial; PAI-1: inhibidor del activador de plasminógeno; SRAA: Sistema Renina-Angiotensina-Aldosterona; TIMP-2: inhibidor tisular de metaloproteinasas.

Los diferentes métodos utilizados para el diagnóstico del DRA incluidos los biomarcadores renales, deben ser integrados para crear nuevas herramientas que permitan un diagnóstico temprano y diferencial del DRA. Los biomarcadores podrían tener un papel preponderante, no solo para el diagnóstico precoz (Vaidya y cols., 2008a; Weiss y cols., 2019) sino también al momento de evaluar la gravedad, la progresión, los mecanismos patológicos implicados y el estado hemodinámico de los pacientes con DRA (Marx y cols., 2018).

Actualmente se busca desarrollar nuevas estrategias para el diagnóstico del DRA, con el fin potenciar la utilidad de los biomarcadores existentes, e involucrar el estudio de las distintas comorbilidades y factores de riesgo asociados al DRA. Por ejemplo, un estudio analizó de forma retrospectiva por medio de un nomograma, las historias clínicas de 1900 pacientes sometidos a cirugía cardíaca durante 5 años, el cual arrojó que el 71 % de los pacientes desarrolló un DRA en estadio 1, el 17 % en estadio 2 y el 8 % en estadio 3. Los cuales mediante un análisis multivariante

determinaron que los factores que favorecieron el DRA asociados a la cirugía cardíaca fueron los siguientes: la edad, la TFG, los niveles de lactato deshidrogenasa (LDH), el tiempo de protrombina (TP) perioperatorio; los antecedentes de cirugía, de transfusión, de arritmia cardíaca, de enfermedad coronaria y la presencia de ERC. También se determinó que algunos fármacos usados antes de la cirugía favorecían la aparición de DRA, dentro los cuales se encontraban: los bloqueadores de los canales de Ca^{2+} , inhibidores de la bomba de protones, AINEs, antibióticos o estatinas. Además, el nomograma demostró una buena precisión en la estimación del DRA asociada a cirugía cardíaca (Gomelsky y cols., 2020; Guan y cols., 2019). Estos resultados ponen de manifiesto la gran importancia que tienen los factores de riesgo y las distintas comorbilidades en el DRA, que sumados a la información que nos brindan los biomarcadores pueden integrarse para desarrollar herramientas más eficaces que puedan predecir el riesgo de DRA y establecer el pronóstico del paciente. Otros estudios han identificado como posible biomarcador el estudio de la reserva funcional renal, ya que puede predecir (según la disminución previa de su valor) el riesgo que tiene un paciente de sufrir un DRA en caso de someterse a una cirugía cardíaca (Jufar y cols., 2020).

Por otra parte, se han analizado muchas combinaciones y paneles de biomarcadores (Rizvi y Kashani, 2017), así como numerosos estudios de metaanálisis, los cuales han evidenciado que los pacientes ingresados en estado crítico por DRA, necesitan un análisis del pronóstico individualizado y personalizado en vez de un pronóstico basado en datos estadísticos de riesgo de una población. Todos estos estudios buscan obtener datos concluyentes que permitan refinar el diagnóstico haciéndolo más preciso, sofisticado y dinámico (Basu, 2020).

OBJETIVOS

OBJETIVOS

El tratamiento combinado con IECAs, diuréticos y AINEs (conocido como Triple Whammy) puede provocar complicaciones hemodinámicas y renales, especialmente en pacientes de riesgo. A pesar de la importancia de este síndrome no existe un modelo experimental animal que reproduzca las alteraciones hemodinámicas sistémicas y renales, que identifique posibles factores de riesgo, y que permita estudiar los procesos fisiopatológicos implicados y caracterizar el daño renal.

Por ello, en este trabajo de investigación nos hemos planteado los siguientes objetivos:

- Desarrollar y validar un modelo experimental de DRA desencadenado por un AINE (el ibuprofeno) en ratas hipertensas previamente tratadas con una doble terapia antihipertensiva formada por un diurético (la furosemida) y un IECA (el trandolapril).
- Estudiar el efecto de la restricción de la ingesta de agua y de la edad sobre el DRA inducido por el uso combinado de estos fármacos.

El corazón del entendido adquiere sabiduría,
y el oído de los sabios busca la ciencia.

Prov. 18:15

MATERIALES Y MÉTODOS

MATERIALES Y MÉTODOS

1. Modelo experimental

1.1 Mantenimiento de los animales

Se utilizaron ratas espontáneamente hipertensas (SHR) macho de 3 meses con un peso aproximado de 260-280 gramos, y SHR machos de 7 meses con un peso aproximado de 350-400 gramos, procedentes del Servicio de Experimentación Animal (SEA) de la Universidad de Salamanca y de la empresa *Charles River*, respectivamente. Los animales se mantuvieron en régimen de confinamiento controlado en el animalario del SEA durante todo el periodo experimental. Estas instalaciones presentan unas condiciones ambientales constantes (20°C de temperatura, 60 % de humedad ambiental, sistemas de renovación y filtrado de aire, ciclos de luz y oscuridad cada 12 horas) que facilitan la reproducibilidad de los experimentos.

Todos los animales se alimentaron con una dieta estándar (AØ4, *Panlab*), con la siguiente composición: proteína bruta (17,62 % del total), materias grasas brutas (2,50 %), celulosa bruta (4,05 %), cenizas brutas (4,38 %), almidón (43,30 %), calcio (0,66 %), fósforo (0,49 %), sodio (0,14 %), humedad (10,54 %), lisina (0,85 %), metionina (0,29 %), vitamina A (19.900 UI/kg), vitamina D (1.500 UI/kg) y vitamina E (tocoferol) (110 mg/kg).

1.1.1 Manejo de los animales

Los animales se manipularon siguiendo las recomendaciones de la Declaración de Helsinki y los principios del cuidado y la utilización de los animales de experimentación estipulados en las regulaciones internacionales y en las siguientes instituciones europeas y nacionales: la Directiva 2010/63/UE del Parlamento y del Consejo Europeo, relativa a la protección de los animales utilizados para fines científicos; la Ley 32/2007 del Estado Español, para el cuidado de los animales, en su explotación, transporte, experimentación y sacrificio; y los Reales Decretos RD

1201/2005 y RD 53/2013 sobre la protección de los animales utilizados para experimentación y otros fines científicos.

El sacrificio de los animales se llevó a cabo siguiendo las guías para la eutanasia de los animales de experimentación detalladas en el Anexo III del RD 53/2013 (modificado recientemente por el RD 118/2021), relativo a la protección de los animales utilizados en experimentación, otros fines científicos y la docencia.

1.2 Modelo animal

1.2.1 Modelo animal: Desarrollo de un modelo de DRA inducido por *Triple Whammy* en ratas SHR de 3 y 7 meses

Decidimos desarrollar un modelo animal para caracterizar el DRA asociada al uso de los fármacos IECAs, diuréticos, y AINEs, el cual se conoce como *Triple Whammy* (TW), (Camin y cols., 2015). En este trabajo de investigación hemos utilizado la combinación de trandolapril, furosemida, e ibuprofeno para inducir el DRA.

1.2.1.1 Diseño Experimental

Los estudios realizados previamente en nuestro grupo de investigación nos permitieron determinar la dosis y los fármacos necesarios para inducir el DRA, los cuales se detallan en la tabla 7. De igual modo, estudios anteriores ayudaron a determinar los grupos experimentales y las comorbilidades necesarias en estos animales, como la presencia de HTA o la deshidratación. Así mismo, en la figura 10 podemos ver la representación esquemática del desarrollo del experimento. Se hicieron dos grupos experimentales con ratas SHR de 3 meses de edad y ratas SHR de 7 meses de edad. A su vez cada grupo fue dividido en dos subgrupos: a un subgrupo administramos los tres fármacos sin restricción del volumen de agua de bebida (*TW*) y al otro subgrupo administramos los tres fármacos y además se restringió el volumen de agua de bebida para favorecer la deshidratación (*TW+DES*). Igualmente, se hicieron dos grupos controles (CT) con ratas SHR de 3

y 7 meses de edad, donde ambos reciben solamente el vehículo (suero salino 0,9 %); de la misma forma que las ratas tratadas, los controles fueron divididos en dos subgrupos: un grupo control al que colocamos agua (CT) y otro grupo control con agua y restricción del volumen (CT+ DES) para favorecer la deshidratación.

Tabla 7. Fármacos utilizados, vía de administración y dosis administrada. IP: intraperitoneal.

Fármacos	Vía	Medio disolución	Dosis administrada	Observaciones
Furosemida	IP	NaCl 0,9 %	20 mg/kg/día	pH 9,0 – 9,3 (ajustar con NaOH 1N)
Trandolapril	Oral	Agua	0,7 mg/Kg/día	
Ibuprofeno	Oral	Agua	400 mg/kg/día	

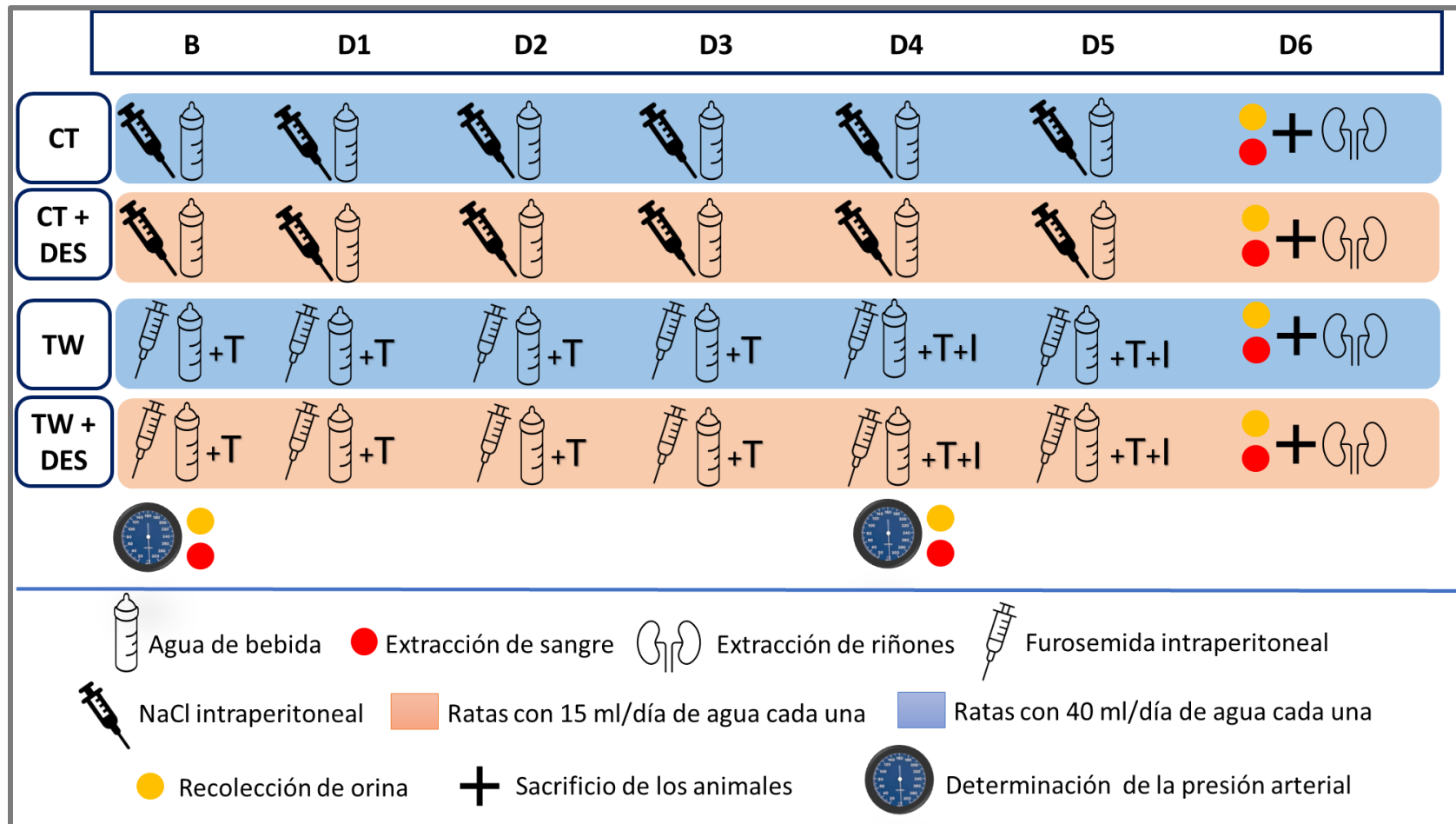


Figura 10. Representación esquemática del modelo animal. Se indica: los diferentes días y puntos del estudio con los diferentes procedimientos realizados a los animales, los grupos experimentales y la vía de administración de los fármacos. B: basal; CT: control; CT+DES: control + deshidratación; D1: día 1; D2: día 2; D3: día 3; D4: día 4; D5: día 5; D6: día 6; I: ibuprofeno; T: trandolapril; TW: *Triple Whammy*; TW+DES: *Triple Whammy* + deshidratación.

1.2.1.2 Grupos experimentales

Basándonos en lo anterior (estudios previos, fármacos, comorbilidades y puntos de estudio) se establecieron los siguientes grupos experimentales:

- Grupo SHR-control (**CT**): ratas SHR de 3 (n=3), y 7 (n=6) meses respectivamente, con suero salino 0,9 % intraperitoneal (IP) tratadas durante seis (6) días. El volumen de agua de bebida diario disponible fue de 40 mL/día/rata.
- Grupo SHR-control + Deshidratación (**CT + DES**): ratas SHR de 3 (n=3), y 7 (n=6) meses respectivamente, con suero salino 0,9 % intraperitoneal (IP) tratadas durante seis (6) días. El volumen de agua de bebida diario disponible fue de 15 mL/día/rata.
- Grupo SHR-*Triple Whammy* (**TW**): ratas SHR de 3 (n=4), y 7 (n=12) meses tratadas simultáneamente con furosemida intraperitoneal (IP) 20 mg/kg/día y trandolapril 0,7 mg/kg/día en agua de bebida durante seis (6) días. El cuarto día (D4) se administró, junto con los fármacos anteriores, ibuprofeno 400 mg/kg/día en el agua de bebida hasta completar los seis (6) días. El volumen de agua de bebida diario disponible fue de 40 mL/día/rata.
- Grupo SHR-*Triple Whammy* + Deshidratación (**TW + DES**): ratas SHR de 3 (n=6), y 7 (n=14) meses tratadas simultáneamente con furosemida intraperitoneal (IP) 20 mg/kg/día y trandolapril 0,7mg/kg/día en agua de bebida durante seis (6) días. El cuarto día (D4) se administró, junto con los fármacos anteriores, ibuprofeno 400 mg/kg/día en el agua de bebida hasta completar los seis (6) días. El volumen de agua de bebida diario disponible fue de 15 mL/día/rata.

2. Técnicas experimentales *in vivo*

2.1 Recogida de orina de 24 horas: jaulas metabólicas

Se utilizaron jaulas metabólicas individuales (Figura 11), (*Panlab*) para la recogida de la orina de 24 horas de los animales. Estas jaulas están perfectamente diseñadas para separar de forma efectiva la orina de las heces del animal en tubos externos a la jaula (Kurien y cols., 2004). Los animales se sitúan en un habitáculo de policarbonato transparente donde disponen de acceso a comida y agua. Este habitáculo presenta un suelo de rejilla que permite la caída de las heces y de la orina a un embudo especialmente diseñado para la separación entre el líquido y el sólido.

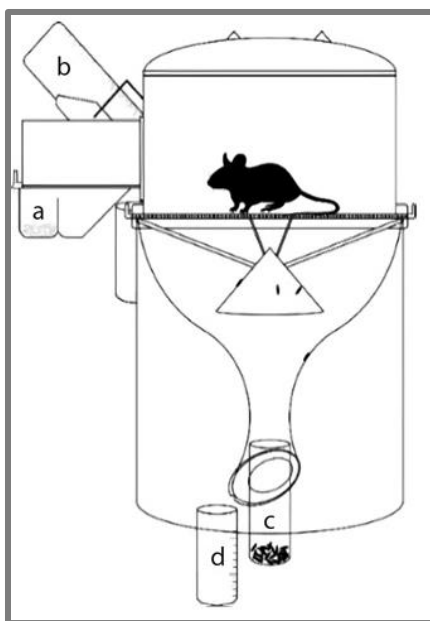


Figura 11. Jaula metabólica. a: recipiente con comida; b: biberón con el agua de bebida; c: colector de heces; d: colector de orina.

Este método para la recolección de orina resulta estresante para los animales, de forma que se realizó un periodo de acostumbramiento de 24 a 48 horas antes de la recogida de las muestras y de los datos, para que el animal pudiera acostumbrarse al habitáculo. Aun así, las jaulas metabólicas se deben utilizar el menor tiempo posible, para evitar la generación de estrés en los animales y la alteración en los resultados del estudio. Antes de la recogida de la orina se añadió aceite mineral (*Panreac*) al correspondiente colector para evitar la evaporación de la orina y azida

sódica al 0,1 % para evitar la contaminación bacteriana de la muestra. En nuestro modelo experimental se mantuvo a los animales en las jaulas metabólicas durante un tiempo aproximado de cuatro (4) días y medio para recoger orina en los tres puntos del estudio. Después de recolectar la muestra basal, los animales con los diferentes fármacos (según el grupo experimental) se mantuvieron en jaulas normales individualizados para minimizar el estrés producido por la jaula metabólica, y se volvieron a introducir a primera hora del día cuatro (D4) y del día seis (D6) para recolectar la orina de estos puntos de estudio al momento de completarse las 24 horas. Tras la recogida de la orina, esta se procesó para eliminar el aceite mineral y otros elementos (resto de comida, pelos del animal, etc.) con los que se hubiera podido contaminar la muestra. Para ello, se centrifugó a $2000 \times g$ durante ocho (8) minutos a temperatura ambiente. Posteriormente, se prepararon alícuotas que se conservaron a -20°C o -80°C en función del análisis que se fuera a realizar.

2.2 Control de la ingesta de agua

Se controló la ingesta de agua de cada animal de forma minuciosa desde el día anterior al inicio del tratamiento y durante los seis (6) días sucesivos del experimento. Para ello, se midió el volumen del agua que administrábamos a la rata en los biberones, y al siguiente día contabilizamos el volumen de líquido restante. Para realizar un control del volumen ingerido los días que no estaban en las jaulas metabólicas, las ratas se mantuvieron en jaulas de $429 \times 269 \times 180 \text{ cm}$ ($800,1 \text{ cm}^2$) individualizadas; lo que nos permitió llevar un control del volumen ingerido día por día de cada animal. Se estimó el balance hídrico diario de cada animal teniendo en cuenta los ingresos de líquidos diarios (volumen de agua ingerido) y las pérdidas de líquidos cuantificables (volumen de orina excretada). Este cálculo nos refleja solamente una estimación aproximada del balance hídrico de cada animal ya que para un cálculo exacto se deben tener en cuenta otras variables tanto de los ingresos de líquidos (comida, metabolismo celular...) como de la salida de líquidos (heces, sudoración, piel, vías respiratorias ...).

2.3 Recolección de muestras de sangre y obtención del plasma

Se recolectaron muestras de sangre de los animales mediante la canulación de la vena caudal. Se anestesió a los animales con isoflurano inhalatorio (*Vetflurane, Virbac*) al 5 % para inducir y a 3 % para mantener a los animales anestesiados, con el fin de evitar dolor al animal y facilitar la manipulación al investigador. Para canular la vena caudal se utilizó un catéter de 25 G (*BD Insyte*) y se recogió la sangre directamente del catéter con la ayuda de capilares heparinizados (*Deltalab*). Su contenido se depositó en tubos tipo *eppendorf* y estos se centrifugaron a $7000 \times g$, a 4°C durante cuatro (4) minutos para la obtención del plasma y de los restos celulares. El plasma se conservó a -20°C o -80°C para su posterior análisis.

2.4 Determinación de la presión arterial en la cola por esfigmomanometría

La presión arterial sistólica (PAS) y presión arterial diastólica (PAD) permitieron calcular la presión arterial media (PAM) y se determinaron mediante un método no invasivo en la cola del animal. Es un método simple y no traumático que permite trabajar con el animal despierto y realizar un seguimiento de este durante un largo periodo de tiempo. Sin embargo, es necesario habituar al animal a este tipo de manipulación para minimizar su estrés y obtener resultados fiables y reproducibles. Se utilizó un equipo NIBP (del inglés *non-Invasive Blood Pressure*), que consta de un equipo base conectado a un pletismógrafo (*LE 5002, Panlab*), asociado a un software específico instalado en un equipo informático. Al pletismógrafo (Figura 12) se adapta un manguito neumático hinchable y un detector de infrarrojos capaz de detectar la señal en la cola del animal.

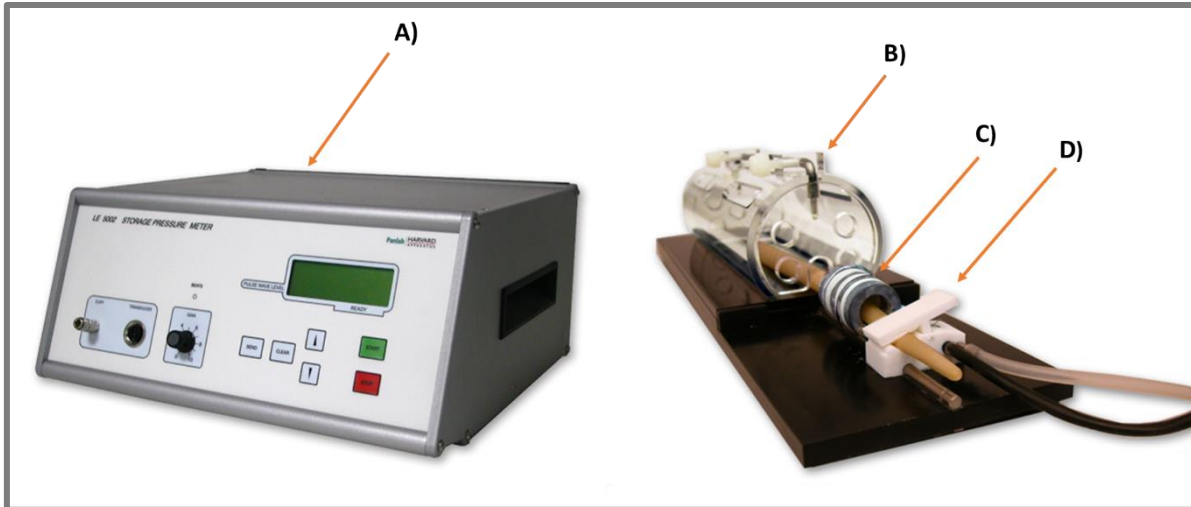


Figura 12. Equipo para la medida de la presión arterial. A) equipo NIBP LE5002 (*Panlab*); B) cepo necesario para inmovilizar al animal; C) manguito que comprime la arteria de la cola; D) transductor que capta la señal en la cola del animal.

Para facilitar la captación de la señal fue conveniente favorecer la dilatación de la arteria caudal mediante la aplicación de calor. Los animales se situaron en unos cepos específicos (*LE 5022, 180x54 mm, Panlab*) que permitieron inmovilizar al animal y dejar la cola libre para la correcta colocación del pletismógrafo. El fundamento de la medida de la PA en la cola de la rata consiste en la oclusión completa de la arteria caudal mediante un manguito neumático que, al inflarse con presión creciente, en cierto punto llega a impedir completamente el paso de la sangre (Figura 13). En ese momento, la oclusión se produce porque la presión del manguito iguala la PA, por lo tanto, el valor de la PA es el valor de la presión del manguito en el momento en el que se produce la interrupción del flujo sanguíneo. La medición de la PA se debe realizar siempre a la misma hora con el fin de evitar la variabilidad debida a los ciclos circadianos del animal, en una habitación aislada de ruido y con temperatura constante. Se deben realizar varias medidas consecutivas a cada animal y descartar aquellas en las que el animal se mueva, se observe alterado o exista algún estímulo externo que pueda estresarlo. El valor de la PA del animal se obtendrá con cinco (5) valores consecutivos que no difieran más de 10 mmHg entre sí, a partir de la media aritmética de estos. Además, el registro de la onda pulsátil permite medir simultáneamente la frecuencia cardíaca en pulsaciones (latidos) por minuto (lpm), a partir de este registro.

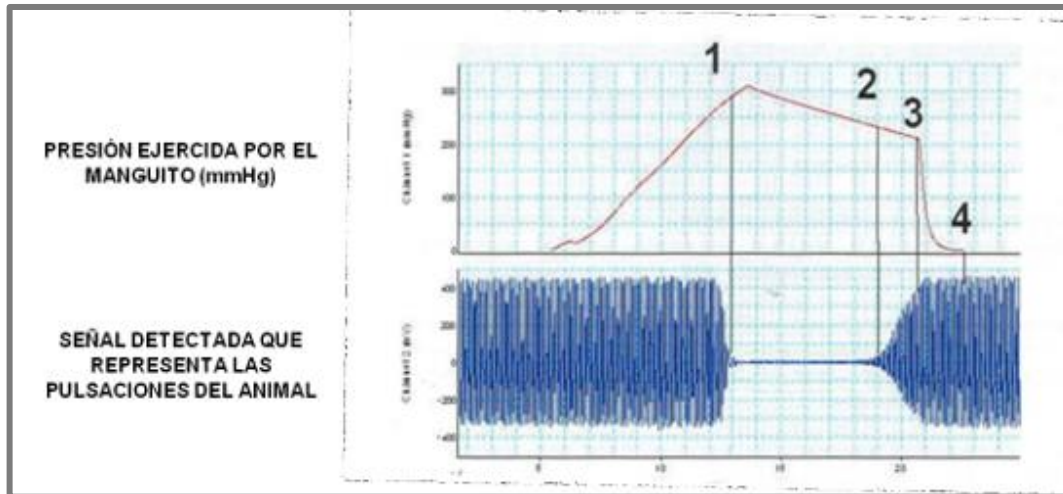


Figura 13. Imagen de la pantalla de registro de presión medida en la cola. Se especifican cada uno de los pasos: 1) la presión del manguito aumenta y la amplitud de las pulsaciones empieza a disminuir hasta llegar a cero; 2) la presión del manguito empieza a disminuir y el infrarrojo detecta las pulsaciones que luego transforma la señal mecánica a eléctrica y se monitoriza por el programa informático instalado en el ordenador, el valor de presión del punto 2 corresponde a la presión sistólica; 3) la presión continúa decreciendo hasta que las pulsaciones detectadas recuperan su amplitud original, punto de presión que equivale a la presión diastólica; 4) la bomba del manguito está preparada para realizar una nueva medida (Pfeffer y cols., 1971).

2.5 Obtención de muestras tisulares

En el D6 se procedió al sacrificio de los animales, momento en el cual se realizó la extracción de sangre y de los riñones. Se anestesió a los animales con la anestesia inhalatoria (isoflurano) como se indicó anteriormente.

Se abrió la cavidad abdominal y se realizó una punción sobre el ventrículo izquierdo del corazón del animal a través del diafragma con una aguja de 25G de 5/8" de largo, para extraer la sangre. La sangre se procesó como se describió anteriormente en el apartado 2.3. Posteriormente se localizaron y extrajeron ambos riñones, los cuales se decapsularon y se recogieron tan rápido como fue posible para evitar la degradación de proteínas y ácidos nucleicos. Uno de los riñones se incluyó en formaldehído al 3,7 %, pH 7, para estudios histológicos, y el otro riñón fue ultracongelado en nitrógeno líquido y conservado a -80°C para su posterior análisis por diferentes técnicas (PCR, *Western blot* y ELISA).

2.6 Determinaciones bioquímicas

2.6.1 Creatinina en el plasma y en la orina y aclaramiento de creatinina

La creatinina es un metabolito muscular que se acumula excesivamente en la sangre cuando disminuye la filtración glomerular y, paralelamente, disminuye su excreción urinaria, ya que el 80-85 % de su eliminación se debe a la filtración glomerular, y el 15-20 % restante a su secreción tubular. Además, el aclaramiento de creatinina es un valor utilizado para estimar la TFG, por lo que la cantidad de creatinina que aparezca en la orina dependerá principalmente de la filtración glomerular (Delanghe y Speeckaert, 2011). Para la determinación de la concentración de la creatinina en el plasma y en la orina se utilizó un kit comercial (*Quantichrom creatinine assay kit, BioAssay System*). Esta técnica se fundamenta en el método colorimétrico-cinético conocido como reacción de Jaffé (Husdan y Rapoport, 1968). La creatinina es capaz de unirse al ácido pírico en medio alcalino y dar lugar a un complejo coloreado (complejo de Janvosky), cuya intensidad es proporcional a la concentración de creatinina.

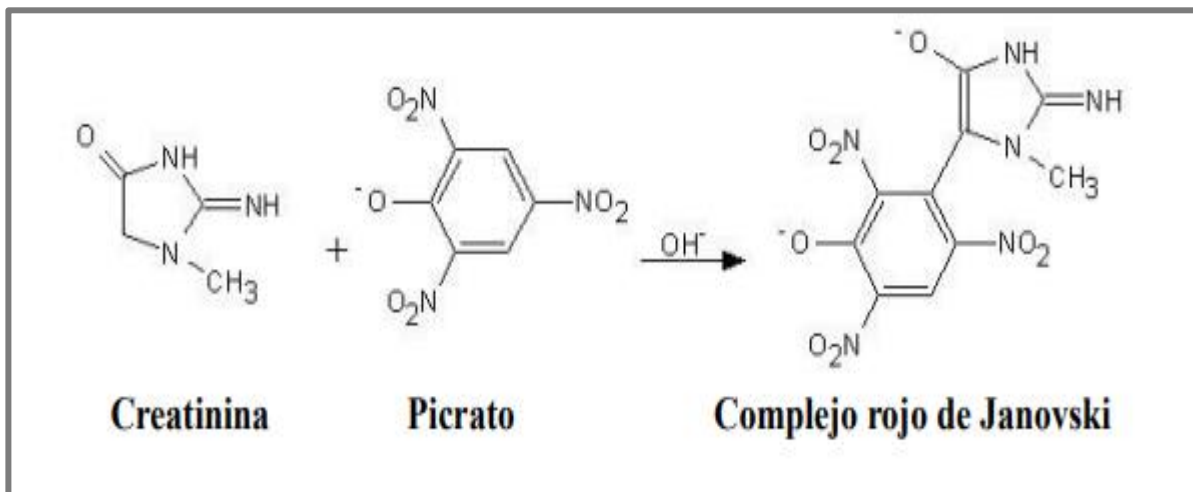


Figura 14. Reacción de Jaffé.

En el caso de las muestras de plasma, se pipetearon 30 μL del plasma y de los patrones de la recta estándar preparada (rango 0,25-10 mg/dL de creatinina) en una placa de 96 pocillos. Se añadieron 200 μL de la mezcla de reactivos A y B del kit comercial (proporción 1:1) y se midió la absorbancia en un lector de placas a 490 nm tras añadir los reactivos (OD0) y tras cinco minutos

(OD5). En el caso de las muestras de orina, se pipetearon 5 μL de cada una de las muestras de estudio previamente diluidas 1:10 y de la recta estándar de creatinina (rango 0,25-50 mg/dL). Se añadieron 200 μL de la mezcla de reactivos A, B y agua destilada (proporción 1:1:2) y se midió la absorbancia siguiendo los pasos explicados anteriormente. En ambos casos, se determinó la concentración de creatinina siguiendo los siguientes pasos: i) se calculó la diferencia entre OD5-OD0 de las muestras y de los calibradores de la recta estándar; ii) se determinó la recta estándar a partir de las absorbancias obtenidas para cada calibrador utilizado; iii) se extrapola la concentración de creatinina de cada una de las muestras y se tuvo en cuenta el factor de dilución en cada caso.

El aclaramiento de la creatinina se utiliza para estimar la TFG. Se puede calcular según la siguiente fórmula:

$$\text{TFG} = \frac{\text{FU (mL/min)} \times \text{CrU (mg/dL)}}{\text{CrP (mg/dL)}} = \text{ClCr (mL/min)}$$

Donde TFG es la tasa de filtración glomerular, FU es el flujo urinario (mL/min), CrU es la concentración de creatinina en orina (mg/dL), ClCr es el aclaramiento de creatinina (mL/min), y CrP es la concentración de creatinina en plasma (mg/dL).

2.6.2 Determinación de la urea plasmática

La urea es un metabolito hepático que se acumula excesivamente en la sangre cuando disminuye la filtración glomerular. Para la determinación de la concentración de urea en el plasma se utilizó un kit comercial (*Urea Assay Kit, BioChain*). Este kit comercial se fundamenta en el

método colorimétrico propuesto por Jung (Jung y cols., 1975), que describe la reacción que se produce entre la urea, y dos moléculas, el ortoftalaldehído (OPA) y el N-naptileno diamida (NED) para dar lugar a un compuesto coloreado cuya intensidad será directamente proporcional a la concentración de urea. Según el protocolo comercial, se pipetearon 5 μ L de las muestras de plasma previamente diluidas 1:5 en una placa de 96 pocillos y de los calibradores de la recta estándar de urea (0 a 50 mg/dL de urea). Se añadieron 200 μ L de la mezcla de reactivos A-B del kit comercial (proporción 1:1) a cada pocillo y se incubó la placa durante 20 minutos en oscuridad a temperatura ambiente. Posteriormente, se midió la absorbancia de los pocillos en un lector de placas (ELx800, *Bio-Tek Instruments*) a 540 nm. Tras obtener las absorbancias correspondientes a cada calibrador de la recta estándar, se extrapola la concentración de urea de cada una de las muestras de plasma analizadas y se tuvo en cuenta el factor de dilución.

2.6.3 Determinación de la concentración de proteínas en la orina

La elevada concentración urinaria de proteínas es un indicador de alteración renal funcional (glomerular y tubular). Esta se determinó mediante un kit comercial (*Quantichrom Protein Assay, BioAssay System*). Esta técnica de análisis se basa en el método colorimétrico de Bradford (Bradford, 1976). El colorante utilizado, azul de Coomassie G-250, se une a los aminoácidos básicos de las proteínas en una solución ácida lo que produce un cambio en la longitud de onda de absorción máxima del colorante, pasando de 465 a 595 nm. La intensidad de la absorbancia medida a 595 nm de longitud de onda será proporcional a la concentración de proteínas de las muestras de estudio. Según el protocolo comercial, se pipetearon 10 μ L de las muestras de orina sin diluir o diluidas 1:5 (en caso de que sin diluir la concentración de proteínas estuviera por encima de 1mg/mL, el punto máximo de la recta patrón) y los calibradores de una recta patrón estándar de albúmina de suero bovino (BSA, por sus siglas en inglés *bovine serum albumin*), (0 a 1 mg/mL) en una placa de 96 pocillos. Se añadieron 200 μ L del reactivo comercial previamente diluido 1:5 con agua destilada. Se midió la absorbancia a 595 nm en un lector de placas. Tras obtener las absorbancias correspondientes a cada calibrador de la recta estándar, se extrapola la concentración de proteínas de cada una de las muestras de orina.

La concentración de proteínas en las muestras de orina de los animales del estudio no nos reporta información relevante sobre su función renal, ya que es necesario tener en cuenta el volumen de orina en el que se han excretado dichas proteínas, es decir, la excreción de proteínas. Se determinó la excreción de proteínas totales por día, con el fin de valorar la presencia de proteinuria, según la siguiente fórmula:

$$\text{Excreción urinaria de proteína (mg/día)} = \text{Cpo (mg/mL)} \times \text{FU (mL/día)}$$

Donde Cpo es la concentración de proteínas en la orina y FU flujo urinario.

2.6.4 Determinación de la excreción urinaria de N-acetil-β-D-glucosaminidasa (NAG)

El marcador de daño tubular *N-acetil-β-D-glucosaminidasa* (NAG) es una enzima lisosomal encargada de catalizar la hidrólisis de enlaces glucosídicos. Para determinar su concentración se utilizó un kit comercial (*Diazyme N-acetyl-β-D-glucosaminidase assay*) basado en su acción enzimática. La NAG hidroliza el compuesto 2-metoxi-4-(2'nitrovinil)-fenil 2 acetamida-2-deoxi-β-D-glucopiranosido (MNP-GlcNac) en 2-metoxi-4-(2'nitrovinil)-fenol, producto que desarrolla color (a 505 nm de longitud de onda) en contacto con una solución alcalina. Siguiendo el protocolo propuesto por la casa comercial, se pipetearon 10 μL de las muestras de orina y de una recta patrón estándar de concentraciones de NAG conocidas (0-46,9 UU. II/L) en una placa de 96 pocillos. Se añadieron 150 μL de la mezcla de reactivos R₁+R₂ (proporción 3:1) y se incubó la placa a 37°C en una estufa durante 5 minutos. Tras dicha incubación, se añadieron 50 μL del reactivo R₃ a cada pocillo, reactivo alcalino que detiene la reacción y produce el viraje de color del compuesto formado, cuya absorbancia se midió a 505 nm en un lector de placas. Con la absorbancia determinada de cada una de las muestras de estudio y de los calibradores de la recta estándar, se calculó la recta patrón de concentraciones de NAG

conocidas y se extrapoló a partir de ésta la concentración de NAG en cada una de las muestras analizadas.

Se calculó la excreción urinaria de NAG diaria según la siguiente fórmula:

$$\text{Excreción urinaria de NAG (UU.II/día)} = \text{Conc. NAG (UU.II/mL)} \times \text{FU (mL/día)}$$

Donde Conc. NAG es la concentración de NAG en la orina obtenido por el kit comercial en UU. II/mL y FU es el flujo urinario en mL/día.

2.6.5 Determinación de la concentración de Na⁺ en la orina y en el plasma

El Na⁺ se calculó en muestras de plasma y orina mediante la utilización de un medidor de Na⁺ compacto (*LAQUATWin B-722, Horiba Scientific*). El principio de medición de este sensor potenciómetro (Figura 15), el electrodo selectivo de iones (ISE, por sus siglas en inglés *Ion-selective-electrode*), se establece por la ecuación de Nerst, que utiliza las medidas de los potenciales eléctricos en soluciones para calcular las concentraciones de un tipo preciso de ion. Para ello, consta de un dispositivo para medir potenciales, un electrodo de referencia y un electrodo selectivo del ion a caracterizar. Este tipo de electrodos presentan una membrana que responde selectivamente a un determinado ion. Esta membrana está en contacto, por una parte, con la disolución de estudio, y por otra, con una solución estándar de una concentración conocida. Esta solución estándar está, a su vez, en contacto con un electrodo de referencia. La presencia de la membrana modifica el transporte a través de ella, lo que produce una diferencia de potencial, en función de la composición de las soluciones a ambos lados de la membrana. Esta diferencia de potencial puede ser medida mediante un voltímetro y calcular la concentración de la disolución aplicando la ecuación de Nerst.

Para analizar las muestras de plasma se realizó una dilución 1:20 y se utilizó un volumen de 100 μL . Para las muestras de orina la dilución fue 1:2 y la medida se realizó con un volumen de 150 μL . La muestra se colocó en el soporte donde se encuentra situada la membrana y el aparato determinó la concentración de Na^+ de cada muestra.

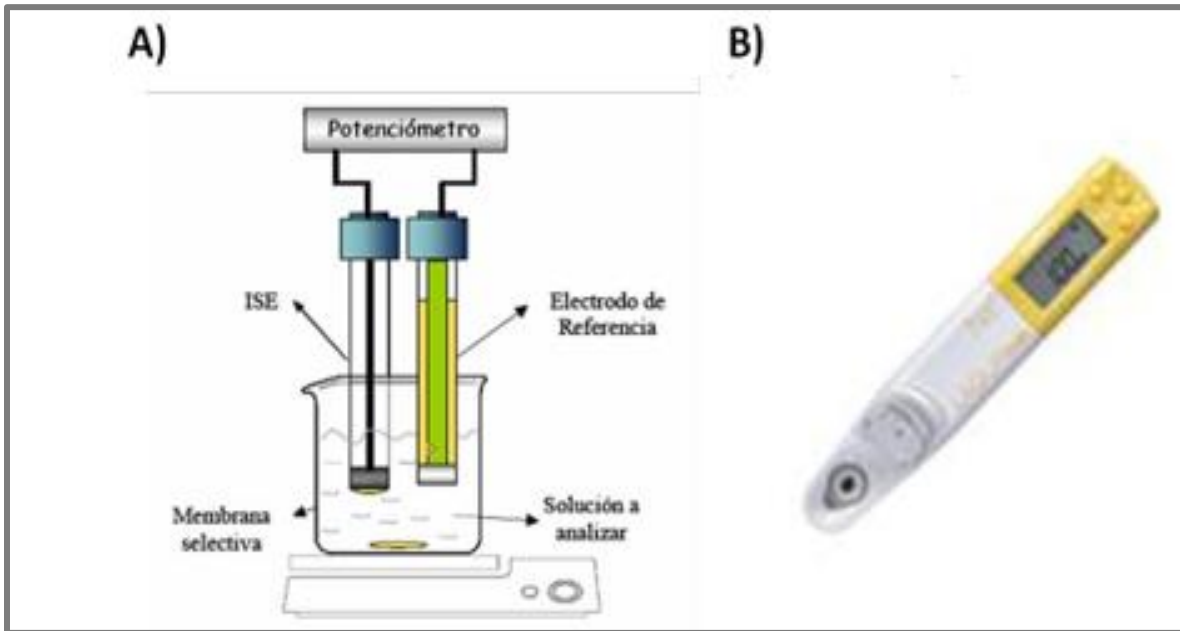


Figura 15. Potenciómetro para medir iones Na^+ . A) fundamento teórico del medidor de Na^+ utilizado. B) equipo LAQUATwin B-722. ISE: electrodo selectivo de iones.

A partir de los valores de Na^+ en el plasma y en la orina se calculó la excreción fraccional de Na^+ , la cual mide el manejo total de Na^+ por el riñón ya que indica la proporción del Na^+ filtrado que es excretado. Para ello se utilizó la siguiente fórmula:

$$EF_{\text{Na}} = \frac{\text{NaU} \times \text{CrP}}{\text{NaP} \times \text{CrU}} \times 100$$

Dónde EFNa es la excreción fraccional de Na⁺, NaU es la concentración de Na⁺ en orina, CrP es la concentración de la creatinina en el plasma, NaP es la concentración de Na⁺ en el plasma y CrU es la concentración de la creatinina en la orina.

3. Identificación de proteínas mediante la técnica *Western blot*

La técnica de *Western Blot* permite la identificación de proteínas específicas en diferentes tipos de muestras biológicas como orina, sangre o tejido. En esta técnica las proteínas presentes en una muestra se separan en base a su peso molecular en un gel de poliacrilamida. A continuación, las proteínas se transfieren a una membrana donde pueden ser reconocidas por un anticuerpo específico (primario). Este anticuerpo primario reacciona con un anticuerpo secundario conjugado con la enzima HRP (enzima peroxidasa de rábano picante, del inglés *horseradish peroxidase*) la cual reacciona con un sustrato específico (por ejemplo, el luminol, al que oxida en presencia de peróxido de hidrógeno), produciendo una reacción fácilmente detectable y relativamente proporcional a la cantidad de la proteína de la muestra (Figura 16), (Gallagher y cols., 2008; Towbin y cols., 1979).

En este trabajo de investigación se ha usado la técnica de *Western blot* para detectar proteínas en muestras de orina.

3.1 Preparación de las muestras, electroforesis y transferencia

Para la preparación de las muestras, primero se determinó la cantidad de orina a cargar en cada pocillo del *Western blot* en función del flujo urinario diario correspondiente a cada animal. De manera que la cantidad de orina que se cargó fue proporcional al FU en relación 1:1000, es decir, si el flujo urinario fue de 12 mL la cantidad a cargar fue 12 µL. El volumen de orina determinado se completó con H₂O destilada hasta 21 µL.

A continuación, se prepararon las muestras en condiciones desnaturalizantes y reductoras con el fin de deshacer la estructura tridimensional de las proteínas. Para ello, se añadió el tampón de carga Laemmli (Tris 125 mM, glicerol al 10 %, SDS al 2 %, β-mercaptoetanol al 1 % y azul de

bromofenol al 0,0005 %; pH 6,8) en proporción 1:3 con la muestra de orina y se hirvieron a 100°C durante 5 minutos (Laemmli, 1970).

Las proteínas se separaron mediante electroforesis vertical en geles de acrilamida o SDS-PAGE (del inglés *sodium dodecyl sulfate polyacrylamide gel electrophoresis*). Se utilizaron geles comerciales con un porcentaje de acrilamida 4-20 % (Bio-Rad). En uno de los pocillos del gel se cargó el marcador de proteínas de pesos moleculares conocidos (Termo Fischer Scientific).

La electroforesis se realizó en cubetas Mini-PROTEAN®III (Bio-Rad) donde el gel estaba sumergido en un tampón de electroforesis (Tris 25 mM, Glicina 192 Mm, pH 8,3, SDS al 0,1 %). Este tampón favorece la electroforesis y el SDS es capaz de unirse a las proteínas y enmascarar su carga positiva, de forma que, cargadas negativamente, se desplazan hacia el polo positivo separándose únicamente por su peso molecular.

Una vez que las proteínas se separaron por su tamaño, se transfirieron a una membrana de difluoruro de polivilideno (PVDF, del inglés *polyvinylidene difluoride*; *Inmobilon P*, *Millipore*) para facilitar la detección por los anticuerpos en los pasos siguientes. Se utilizó el método de transferencia semiseca, para lo que se montó un “sándwich” poniendo en contacto el gel con la membrana y colocando dos papeles de filtro, uno sobre el gel y otro sobre la membrana. Se humedeció el “sándwich” con tampón de transferencia (*Transblot Turbo Transfer Buffer*, *Bio-Rad*) y se llevó a cabo la transferencia usando un equipo comercial (*Transblot Turbo*, *Bio-Rad*) que permite el paso de una corriente eléctrica a través del gel, haciendo que las proteínas migren del polo negativo, donde se encuentra el gel, hacia el polo positivo, donde se encuentra la membrana, quedando atrapadas en esta.

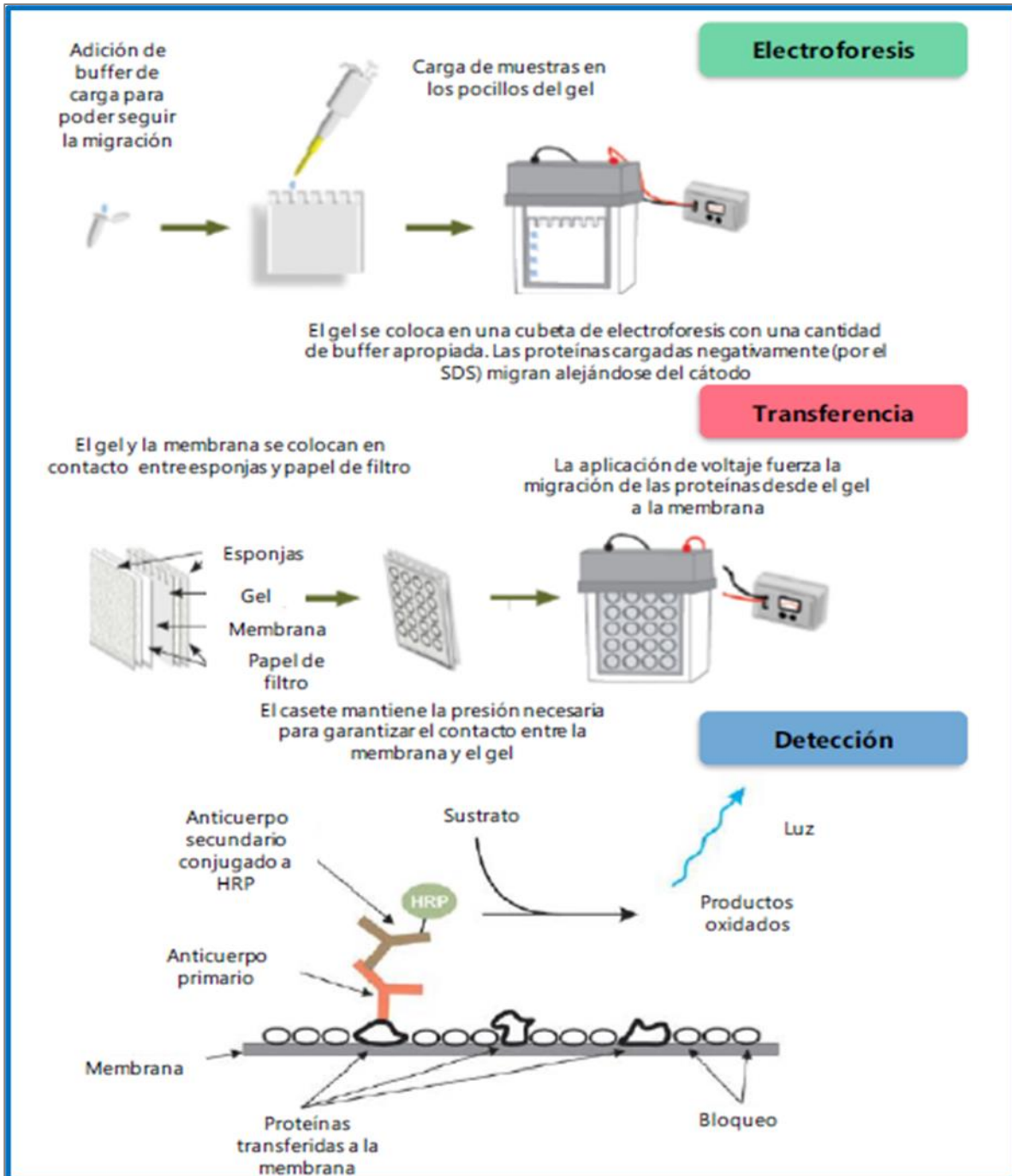


Figura 16. Representación esquemática de la técnica Western blot (Blanco-Goza, 2017). HRP: enzima peroxidasa de rábano picante (*horseradish peroxidase*); SDS: dodecil sulfato sódico.

3.2 Bloqueo e incubación con los anticuerpos

Una vez finalizada la transferencia, para evitar uniones inespecíficas durante la inmunodetección se procedió al bloqueo de los lugares de la membrana no ocupados por proteínas. Para ello se incubó la membrana durante 2 horas en agitación con solución de bloqueo, en tampón de lavado (100 mL PBS 10X, 1 mL de Tween-20 y c.s.p. 1 L de H₂O destilada) con BSA al 3 %.

A continuación, se incubó la membrana toda la noche a 4°C en agitación con el anticuerpo primario diluido en solución de lavado con BSA al 1 %. Pasado el tiempo de incubación, se realizaron 3 lavados de 7 minutos con tampón de lavado, y se incubó con el anticuerpo secundario diluido en solución de lavado con BSA al 3 % durante 1 hora a temperatura ambiente y en agitación. Posteriormente, se realizaron 3 lavados de 7 minutos con tampón de lavado. La tabla 8 muestra el anticuerpo primario y secundario utilizado, sus diluciones y condiciones.

Tabla 8. Relación de anticuerpo primario y secundario utilizados para Western blot.

Anticuerpo	Dilución	% BSA	Tiempo	Temperatura
Primario: Ac de ratón anti-PAI-1 612025 (Pharmlingen)	1:500	1	o/n	4°C
Secundario: Cabra anti-ratón IgG (H + L) 1034-05 (Southern Biotech)	1:5000	3	1 hora	RT

Ac: anticuerpo; BSA: albúmina de suero bovino (del inglés bovine serum albumine); IgG: inmunoglobulina; o/n: toda la noche (del inglés *over night*); PAI-1: inhibidor del activador de plasminógeno; RT: temperatura ambiente (*RT*, del inglés *Room Temperature*).

3.3 Revelado

Para detectar la señal emitida por el anticuerpo secundario, se utilizó un sistema basado en la oxidación del luminol potenciada con fosfo-iodofenol. Las membranas se incubaron durante 1 minuto en una solución de ECL (Tris-HCl 1 M, pH 9,35; luminol 2,2 mM, p-iodofenol 2,2 mM) suplementada con H₂O₂ al 0,03-0,06 %. La enzima HRP unida al anticuerpo secundario cataliza la descomposición del H₂O₂ y libera O₂ que oxida el luminol. El luminol oxidado emite una señal de luminiscencia, que será mayor cuanto más proteína haya, puesto que unirá mayor cantidad de anticuerpo y habrá más catálisis enzimática en ese punto.

El revelado se realizó en el equipo *ChemicDoc Imaging Systems*. La membrana preparada con los reactivos se introdujo en la cámara para el revelado, se escogió la opción de revelado *Blots* y posteriormente la opción *Chemiluminescence*, tocando en la pantalla del equipo. Se operó el proceso de forma manual, con una resolución media, durante 180 segundos (3 minutos). Obteniendo una imagen en formato *Image Lab Image Document* (.scn) que fue utilizada para realizar la cuantificación.

3.4 Normalización de datos

En todos los *Western blot* se ha utilizado un control positivo (C+) con el cual hemos hecho una recta patrón, usando la orina de una rata con DRA inducido por gentamicina a 150 mg/Kg, la cual expresaba el biomarcador analizado. Se cargaron 3 puntos del C+ con tres diluciones distintas para posteriormente poder realizar una recta que nos permitiera la cuantificación. Se cargó un total de 20 µL en cada uno de los 3 puntos: i) C+ 10: 10 µL de C+ + 5 H₂O + 5 µL del tampón de carga; ii) C+ 3,75: 3,75 µL C+ + 11,25 µL de H₂O + 5 µL del tampón de carga; iii) C+ 0,75: 0,75 µL de C+ + 14,25 µL de H₂O + 5 µL del tampón de carga.

3.5. Cuantificación

Tras el revelado, la imagen se procesó en el programa *ImagenLab*, el cual nos permite asignar la propiedad adecuada a cada banda (recta estándar o muestra). Añadimos los valores del volumen cargado de nuestra recta y de las muestras. Posteriormente generamos la curva estándar y comprobamos que era correcta. Después se cuantificaron las muestras y con los valores obtenidos realizamos el análisis de los datos exportándolos previamente a un documento Excel.

4. Detección de biomarcadores por la técnica ELISA

La técnica ELISA, acrónimo del inglés *Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay*, es un ensayo de inmunoabsorción enzimática que se basa en la detección de un antígeno presente en una muestra mediante anticuerpos que, directa o indirectamente, producen una reacción cuantificable espectrofotométricamente (Engvall y Perlmann, 1971; Voller y cols., 1976).

El ELISA empleado en este estudio fue de tipo “sándwich”. Se denomina así porque el antígeno o proteína a detectar queda atrapado entre dos capas de anticuerpos, el de captura y el de detección. En este tipo de ELISA, la proteína a determinar queda inmovilizada en una superficie sólida mediante la unión al anticuerpo de captura previamente adherido a dicha superficie (el fondo de los pocillos de una placa de ELISA). Una vez inmovilizada la proteína de interés, se añade un segundo anticuerpo primario conjugado con biotina, denominado anticuerpo de detección, que también se une a la proteína de interés, pero en un epítipo distinto al que lo hace el anticuerpo de captura.

Tras un periodo de incubación que suele variar entre 1 y 2 horas, se añade la proteína estreptavidina asociada a la enzima HRP. La estreptavidina tiene gran afinidad por la biotina del anticuerpo de detección, de manera que si hay proteína en las muestras de estudio se forma el siguiente complejo de unión: anticuerpo de captura-proteína-anticuerpo de detección-HRP estreptavidina. Finalmente, la adición de un sustrato coloreado (generalmente TMB, 3,3',5,5'-tetrametilbencidina) susceptible de ser modificado por esta última enzima permite obtener una señal visible por espectrofotometría (Figura 17).

Se usó la técnica ELISA para determinar cuantitativamente la presencia de los componentes del SRAA y de la NA en plasma, así como de un biomarcador de daño renal agudo en la orina (NGAL). En la tabla 9 se muestran los diferentes kit de ELISA utilizados, el rango de detección, la sensibilidad y las diluciones empleadas. Se siguieron en cada caso las instrucciones indicadas por el fabricante.

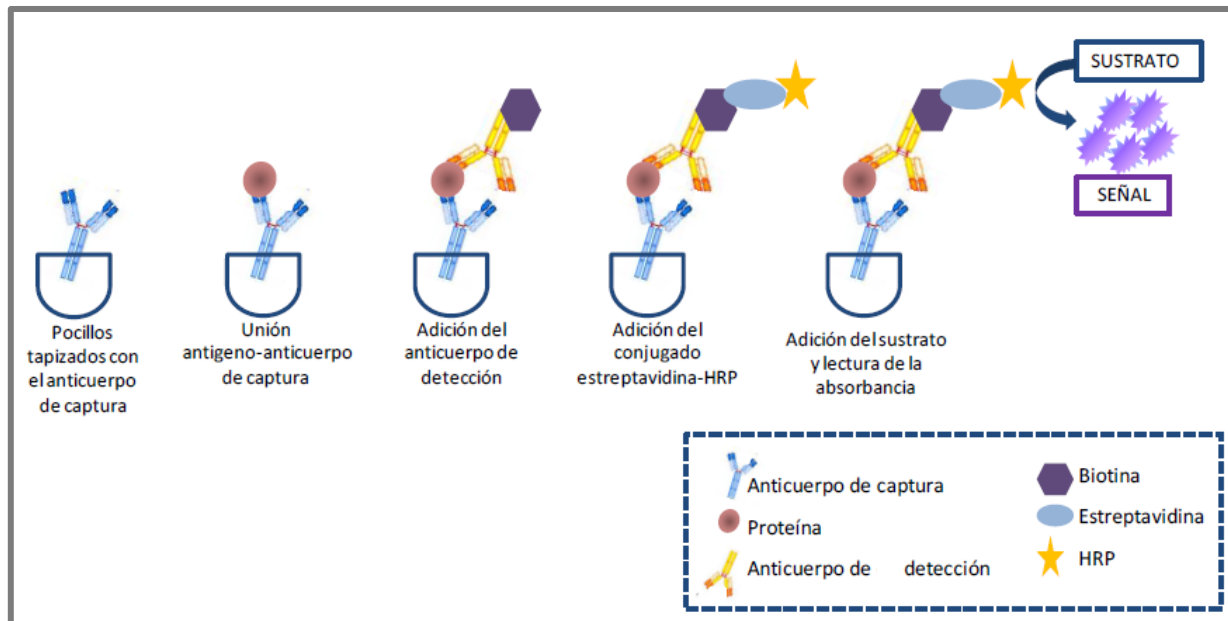


Figura 17. Esquema representativo del ELISA tipo sándwich llevado a cabo en nuestro trabajo, en muestras de plasmas y orina (Apausa Cuesta, 2019). HRP: enzima peroxidasa de rábano picante (*horseradish peroxidase*).

En todos los ELISAS empleados se midió la densidad óptica a 450 nm. La intensidad de color producido es directamente proporcional a la cantidad de proteína contenida en las muestras de estudio. Con la absorbancia determinada de cada uno de los calibradores de la recta estándar, se creó la curva de concentraciones de biomarcador conocidas mediante la realización de un análisis de tipo *four parametric logistic* (4PL), un modelo de regresión no lineal de uso común en ensayos biológicos. La ecuación que define este modelo es la siguiente:

$$x = C \times \sqrt{\frac{A - D}{f(x) - D} - 1}$$

Donde A es la asíntota horizontal que define el mínimo, B es el coeficiente de *Hill Slope* que define lo pronunciada que es la curva, C representa el punto de inflexión de la curva, D es la asíntota horizontal que define el máximo de la curva y X es la concentración medida.

Tabla 9. Relación de biomarcadores analizados por la técnica de ELISA.

Proteína	Nombre	Rango de detección	Sensibilidad	Dilución muestra
ADH	<i>Rat ADH (Antidiuretic Hormone)</i> ELISA Kit	15,63 pg/mL- 1000 pg/mL	9,38 pg/mL	Sin diluir
AngI	<i>Rat Angiotensin I (AngI)</i> ELISA Kit	15,625 pg/mL- 1000pg/mL	4,62 pg/mL.	1:2
AngII	<i>Rat Angiotensin II (ANG-II)</i> ELISA kit	4,7 pg/mL-300 pg/mL	1.17 pg/mL	1:10
NA	<i>Rat Noradrenaline, NA</i> ELISA Kit	0,49 pg/mL- 2000 pg/mL	0,49 pg/mL	1:10
NGAL	Rat NGAL ELISA Kit	4-400 pg/mL	0,5 pg/mL	1:30.000- 1:200.000

ADH: hormona antidiurética; AngI: angiotensina I; AngII: angiotensina II; NA: noradrenalina; NGAL: lipocalina asociada a gelatinasa neutrófila.

5. Análisis histológico

Los riñones destinados a los estudios histológicos se fijaron con formaldehído tamponado al 3,7 % durante 24 horas para evitar la degradación del tejido. Después se deshidrataron en una concentración creciente de etanol desde 50 % hasta 100 % para permitir que la parafina pueda penetrar posteriormente en el tejido ya que no es miscible con el agua. Tras la deshidratación se sumergió el tejido en xileno, para sustituir el etanol y por tanto favorecer la penetración de la parafina en el siguiente paso. Finalmente, el tejido se incluyó en parafina en una estufa a 60°C durante 24 horas y se obtuvieron bloques, que se cortaron con un microtomo (HM-310, Micron) en secciones transversales de 5 µm de grosor. Por último, los cortes se depositaron en un portaobjetos y se dejaron secar en la estufa durante 24 horas. Antes de realizar las diferentes tinciones, se desparafinaron los cortes de tejido con xileno y se rehidrataron haciéndolos pasar por una serie de graduaciones decrecientes de etanol (desde el 100 hasta el 76 %) hasta finalizar con una solución al 100 % de agua destilada.

5.1 Tinción hematoxilina-eosina

Esta tinción histológica permite el estudio de la morfología de las células que conforman el tejido de estudio debido a los dos tintes utilizados, así como de las estructuras tisulares en conjunto. La hematoxilina se une intensamente a los ácidos, por lo que se unirá a los ácidos nucleicos y marcará el núcleo celular de un tono azulado. La eosina, compuesto cargado negativamente, presenta afinidad por los compuestos básicos, de forma que delimita el citoplasma de la célula de un tono rosado.

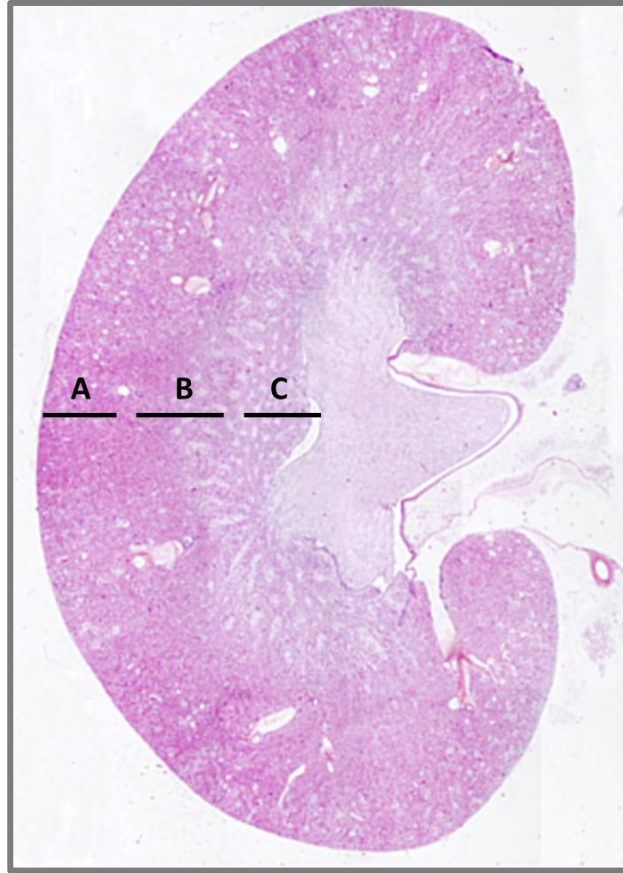


Figura 18. Imagen representativa de un corte longitudinal de un riñón de rata teñido con hematoxilina-eosina. Se diferencian las tres partes principales: A) corteza; B) médula externa; C) médula interna.

Se introdujo el tejido deshidratado en hematoxilina durante 10 minutos y en eosina durante 30 segundos. Posteriormente, se deshidrató de nuevo el tejido con alcohol siguiendo el mismo procedimiento descrito anteriormente. Tras la deshidratación, se añadió medio de montaje DPX a los portaobjetos y se colocó un cubreobjetos para proteger los cortes teñidos. Una vez secos, se observaron en un microscopio óptico (Olympus BX51) y se realizaron fotografías para su análisis.

Se realizó el estudio histológico del tejido renal observando la corteza, la región medular externa y la región medular interna, con el fin de evaluar la presencia o ausencia de daño en el tejido renal tras el tratamiento farmacológico.

La tabla 10 muestra las características del daño evaluadas en las cuatro estructuras fundamentales del riñón: los glomérulos, los túbulos, el intersticio renal y los vasos sanguíneos, así como su valor numérico asociado. Para ello, se dividió el área renal a analizar (corteza, médula externa y médula interna) en diez campos visuales observados con el microscopio y se evaluó la

presencia de alguna alteración en cada una de las estructuras citadas. Tras analizar los diez campos visuales, se adjudicó el valor numérico correspondiente a cada estructura renal analizada.

Estructura Renal	Valor numérico 0	Valor numérico 1	Valor numérico 2
Glomérulo	Sin alteraciones	Proliferación mesangial focal	Aparición de glomérulos esclerosados
Túbulos renales	Sin alteraciones	Aparición de microvacuolas citoplasmáticas, incremento de la celularidad, cambio de conformación de los túbulos	Hinchamiento de células tubulares, vacuolización, pérdida del borde en cepillo, material hialino y pérdida de los núcleos
Intersticio renal	Sin alteraciones	Proliferación estroma focal	Pérdida de los núcleos celulares, alteración inflamatoria y fibrosis
Vasos sanguíneos	Sin alteraciones	Leve engrosamiento de las paredes vasculares	Engrosamiento de las paredes vasculares, aparición de trombos proteicos, infiltrado inflamatorio

Tabla 10. Valor numérico asociado a la característica evaluada del daño renal.

6. Análisis estadístico de los datos

Todos los resultados se expresan como la media \pm error estándar de la media (EEM). Se utilizaron entre 3 y 14 animales por cada grupo experimental. Se aplicó el *test de Kolmogórov-Smirnov* a los diferentes conjuntos de datos para comprobar si su distribución era normal (si se ajustaba a una campana de Gauss simétrica). En caso afirmativo, se aplicaron test estadísticos paramétricos. Para datos normales, se utilizó el test estadístico de análisis de la varianza (ANOVA) de doble vía. Para un mismo grupo en los diferentes días de tratamiento se utilizó un ANOVA de una vía. Consideramos significativo un valor de $p < 0,05$ y muy significativo un valor de $p < 0,01$. En caso de encontrar diferencias significativas en el estudio de ANOVA, empleamos para las comparaciones “*post hoc*” el *test de Bonferroni* para comparar el grupo de estudio con el grupo control o para comparar el mismo grupo experimental en los diferentes días de estudio. En el caso de que los conjuntos de datos no presentaran una distribución normal, se utilizaron los test estadísticos no paramétricos. Se empleó el *test de Kruskal-Wallis* para comparar un mismo grupo en los diferentes días de tratamiento. En este caso empleamos el *test de Dunn’s* para las comparaciones “*post hoc*” y consideramos significativo un valor de $p < 0,05$ y altamente significativo un valor de $p < 0,01$. El análisis estadístico se llevó a cabo con el *software GraphPad Prism 7.00*.

7. Relación de reactivos, materiales y equipos

Tabla 11. *Relación de reactivos y productos utilizados*

Reactivo/Producto	Referencia	Casa comercial
Aceite mineral	141003.1211	Panreac
Agujas 23G	4657667	Braun
Agujas 25G	4657853	Braun
Azida sódica	6688	Merck

Azul de bromofenol	8026	Sigma-Aldrich
Albúmina sérica bovina (BSA)	A7906	Sigma-Aldrich
Capilares heparinizados	7301	Deltalab
Cubreobjetos	200x200	Termo Fischer Scientific
Dieta estandarizada	AØ4	Panlab
Dolethal (Pentobarbital)	424126	Vetoquinol
ELISA ADH	E-EL-R0522	Elabscience
ELISA Angiotensina I	RD-AngI-Ra	Ry D Systems
ELISA Angiotensina II	CBS-E04494r	Cusabio
ELISA NA	CBS-E07022r	Cusabio
ELISA NGAL	KIT-046	Bioporto
Etanol	100983	Merck
Formaldehído	344198	Calbiochem
Furosemida	F4381	Sigma-Aldrich
Geles Criterion TGX 4-20 %	5678094	Bio-Rad
Glicerol	D4751	Sigma-Aldrich
Guantes Nitrilo	902021	Nest
HCl 37 %	100317	Merck
H ₂ O ₂	H-6520	Sigma-Aldrich
Hematoxilina de Harris	10-2332	Casa Álvarez
Heparina 5 %	6547533	Hospira
Hoja de bisturí	BS E 27740	Krape
Ibuprofeno	I1892	Sigma-Aldrich

Isoflurano (Vetflurane)	305845	Virbac
Jeringuillas 1 mL	9161406V	Braun
Jeringuillas 2 mL	4606027V	Braun
Jeringuillas 3 mL	4616057V	Braun
Kit comercial de cuantificación de Creatinina	DICT-500	BioAssay Systems
Kit comercial de cuantificación de NAG	DZ062A-K	Diazyme Laboratories
Kit comercial de cuantificación Proteína	QPCR-500	BioAssay Systems
Kit comercial de cuantificación de Urea	Z5030016	BioChain
Material quirúrgico	-	Fine Scientific Tools (F.S.T)
Medidor de Na ⁺	B-722 Na+	Horiba
Membranas de PVDF	1620177	Biorad
Metanol	34885	Sigma-Aldrich
NaCl	S3014	Sigma-Aldrich
NaOH	28245.29	Prolabo
Papel de transferencia	L00244B	Bio-Rad
Parafina	-	Casa Álvarez
PBS	1610780	Bio-Rad
Pipetas de plástico de 5,10 y 25 mL	-	Corning
Placa de 96 pocillos	900011	Deltalab
Puntas micropipeta sin filtro	200/80/16	Deltalab

Dodecil Sulfato Sódico (SDS)	152002C	Bio-Rad
Tampón de transferencia Trans-blot turboTM	10026929	Bio-Rad
Trandolapril	Ab142955	Abcam
Tris-glicina 10x	1610771	Bio-Rad
Tubos de plástico de 10, 15 y 50 mL	-	Corning
Tubos de plástico de 2 mL	4092.7N	Deltalab
Tubos de plástico de 1,5 mL	200400P	Deltalab
Tween-20	P7949	Sigma-Aldrich
β -mercaptoetanol	M6250	Sigma-Aldrich

Tabla 12. Relación de equipos y aparatos utilizados.

Equipo/aparato	Casa comercial
Agitador	Grant BOEKEL
Agitador de placa	Boeco
Balanza analítica de precisión	Mettler Toledo
Balanza analítica	Bel Engineering
Baño húmedo	Indelan
Biberones para ratas	Tecniplast
Centrífugas microtubo	Eppendorf
Centrífuga tubos de 10-50 mL	Eppendorf

Cepos de rata	Panlab
Equipo electroforesis western blot	Bio-Rad
Equipo transferencia semiseca Western blot	Bio-Rad
Escáner	Canon
Estufa	Amersham Pharmacia Biotech
Incubador	Termo Fischer Scientific
Jaulas para ratas	Tecniplast
Jaulas metabólicas	Panlab
Lector de placa ELISA Eix800	BioTek
Lector de placa ELISA Epoch	Biotek
Lector de placa Multiskan Ascent	ThermoElectron corporation
Máquina para anestesia inhalatoria	MSS Isoflurane
Máquina presión arterial	Panlab
Máquina de revelado Chemidoc Imaging Systems	Biorad
Microscopio óptico BX51	Olimpus
PHmetro	Crison Instruments
Pipetas	Gilson
Pipeta multicanal	Eppendorf
Frigorífico 4 °C y -20 °C	Liebherr
Ultracongelador	Termo Fischer Scientific

Tabla 13. Programas informáticos utilizados.

Programa/software informático	Casa comercial
Adobe Photoshop 7.0	Adobe
GraphPad Prism 7.00	Graphpad
Gen 5.0	Bio-Tek
Google Drive	Google
Image Lab	Biorad
Image Pro-Plus	Media Cybernetics
Mendeley Desktop	Mendeley
Microsoft Excel 365	Microsoft
Microsoft PowerPoint 365	Microsoft
Microsoft Word 365	Microsoft
Olyvia	Olympus
Scion Image	Scion Corporation

Compra la verdad y no la vendas,
la sabiduría, la enseñanza y la
inteligencia.

Prov. 23:23

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

1. Caracterización del modelo experimental animal de daño renal agudo

El modelo experimental de DRA inducido por la triple terapia se desarrolló en ratas SHR, con el fin de reproducir experimentalmente el DRA que sufren los pacientes por el uso de IECAs/ARAII en combinación con los diuréticos utilizados para el control de la HTA y con los AINEs para el tratamiento del dolor; el cual se observa con más frecuencia en los pacientes mayores. El DRA inducido por la triple terapia es un problema de grandes dimensiones debido a que la esperanza de vida ha aumentado sobre todo en los países desarrollados, y con ello el número de personas en edades avanzadas con enfermedades crónicas como la HTA, siendo necesario el uso de varias combinaciones de fármacos antihipertensivos para su control. Además, es importante recordar que los pacientes mayores sufren de enfermedades que ocasionan dolor, siendo necesario el uso de los AINEs y en muchas ocasiones por largos periodos de tiempo. Igualmente, muchos de estos pacientes en edad avanzada son pluripatológicos, y dichas enfermedades son importantes comorbilidades que aumenta la fragilidad, haciéndoles más propensos a descompensaciones y complicaciones de su estado de salud. Por lo cual, la población en riesgo de sufrir un DRA inducido por la triple terapia es elevado, debido a esta fragilidad, y por tanto son proclives a sufrir alteraciones hemodinámicas con consecuencias graves. Tomando en cuenta estas situaciones de salud y la relevancia del problema, hemos desarrollado un modelo para determinar cómo algunos factores de riesgo pueden influir en la aparición del DRA por el uso de la triple terapia, y así poder estudiar su relación con la función renal, con los marcadores de daño renal y algunos de los componentes de la red de regulación hemodinámica.

Dentro de los factores de riesgo que hemos tomado en cuenta se encuentra la deshidratación y la edad. En este estudio hemos analizado como el estado hídrico puede afectar los diferentes parámetros estudiados, puesto que se ha observado una mayor incidencia de deshidratación en pacientes mayores que puede favorecer el aumento de la morbilidad, mortalidad o incapacidad, debido a que presentan menores reservas corporales de agua (Miller, 2015), lo que puede predisponer a complicaciones graves como el DRA, sobre todo por deshidratación hiperosmolar

(El-Sharkawy y cols., 2020). Además, hemos analizado como la diferencia entre las edades de 3 y 7 meses de las ratas puede influir en el desarrollo del DRA por la triple terapia, al evaluar el efecto que produce en los diferentes parámetros analizados. Pues, se conoce que existen más complicaciones renales en pacientes mayores debido al uso combinado de diferentes medicamentos y a los cambios fisiológicos que ocurren a medida que se envejece (Chan y Michelis, 1998).

1.1 Evaluación de la presión arterial sistémica

La medida de la PA se realizó en los distintos grupos experimentales antes de la administración de los fármacos (basal) y después en el D4, con el fin de determinar la eficacia de los fármacos antihipertensivos y valorar el efecto sobre el estado hemodinámico en nuestro modelo experimental (Tabla 14).

El rango normal de PAS de una rata Wistar de laboratorio se encuentra alrededor de 110-120 mmHg, pero en las ratas SHR el valor de la PAS puede alcanzar los 180 mmHg a las 12 semanas e incluso pueden llegar a superar los 200 mmHg. El pretratamiento con trandolapril y furosemida en los grupos *TW* y *TW+DES* (Tabla 14) producen una disminución de la PAS aproximadamente de 30-50 mmHg en las ratas de 3 meses en D4 y de 80-90 mmHg en las ratas de 7 meses. Igualmente se observa una disminución importante en la PAD (Tabla 14), esta disminución se debe al efecto hipotensor del trandolapril (Izzo y cols., 2012) en combinación con la furosemida y no al efecto de la triple terapia que incluye ibuprofeno, ya que estos valores corresponden a las mediciones realizadas en el día basal y D4. Sin embargo, a pesar de no tener las medidas de la PA durante la triple terapia (D6), se sabe que los dos antihipertensivos más el ibuprofeno potencian su disminución; llegando a provocar hipoperfusión renal y favorecer la aparición de un DRA prerrenal (Maxson, 2017).

Presión Arterial Sistólica (PAS)			
Edad	Grupo Experimental	Basal	D4
SHR 3 meses	CT	164,93 ± 4,66	187,2 ± 4,50
	TW	164,7 ± 4,43	127,45 ± 3,72 *** #
	CT + DES	163,13 ± 6,06	192,13 ± 5,80
	TW + DES	162,23 ± 1,94	115,95 ± 8,02 *** #
SHR 7 meses	CT	193,96 ± 6,59	198,64 ± 5,49
	TW	198,64 ± 5,49	119,32 ± 7,27 *** #
	CT + DES	187,1 ± 10,01	202,2 ± 7,02
	TW + DES	193,32 ± 5,15	103,73 ± 7,41 *** #
Presión Arterial Diastólica (PAD)			
Edad	Grupo Experimental	Basal	D4
SHR 3 meses	CT	106,93 ± 5,84	142,4 ± 7,50
	TW	111,97 ± 10,06	85,58 ± 4,90
	CT + DES	111,41 ± 5,67	161,68 ± 5,65
	TW + DES	111,66 ± 3,91	83,99 ± 5,75 *
SHR 7 meses	CT	155,66 ± 4,92	152,88 ± 12,49
	TW	144,54 ± 5,92	87,09 ± 7,27 *** #
	CT + DES	155,5 ± 9,41	143,45 ± 8,15
	TW + DES	152,60 ± 6,52	73,34 ± 5,04 *** #

Tabla 14. Valores de la PAS y PAD de los diferentes grupos experimentales: Los datos representan la media ± EEM. * p<0,05 y *** p<0,01 respecto a la muestra basal del grupo, # p<0,05 respecto al grupo control en el mismo día de tratamiento. CT: control; CT+DES: control + deshidratación; D4: día 4; SHR: ratas espontáneamente hipertensas; TW: *Triple Whammy*; TW+DES: *Triple Whammy* + deshidratación.

Los valores de PAS y PAD en D4 de las ratas tratadas con furosemida y trandolapril disminuyen significativamente respecto a su basal y aunque no llegan a la hipotensión, son más bajos en comparación con otro estudio, donde los niveles de PA en ratas SHR no fueron inferiores a 150 mmHg al usar telmisartán, ramipril y la combinación de estos (Thoene-Reineke y cols., 2011).

El tratamiento con furosemida y trandolapril provocan una disminución progresiva de la PA inferior a 150 mmHg que puede descender aún más debido al AINE y potenciar el riesgo de

DRA; pues otros estudios demuestran que los AINEs aumentan la gravedad del DRA en edades pediátricas y en personas mayores con deshidratación (Farquhar y cols., 1999; Moore y cols., 2015; Schneider y cols., 2006; Wong y cols., 2001).

La reducción de la PAS y PAD es ligeramente mayor, aunque no estadísticamente significativa, en las ratas de 7 meses en los grupos *TW* y *TW+DES* con respecto a las ratas de 3 meses. Es importante señalar que las ratas de 7 meses pueden presentar una caída mayor de los niveles de PA debido a que han alcanzado valores más altos al llegar a la edad adulta, contrario a las ratas de 3 meses que aún no han alcanzado los niveles máximos de PA. Por lo cual, la diferencia en los valores iniciales de PA entre las edades de 3 y 7 meses de las ratas SHR puede condicionar el efecto hipotensor de los fármacos, lo que ocasiona una disminución mayor en los valores de la PA en ratas de mayor edad.

En conclusión, la administración conjunta de estos fármacos produce una disminución importante de la PA en las ratas de 3 y 7 meses, lo que puede aumentar el riesgo de DRA inducido por la triple terapia al afectar la red de regulación hemodinámica. Estos resultados confirman el efecto hipotensor de los fármacos utilizados, pero es importante tener en cuenta que el descenso observado en la PA se debe a una dosis mayor de trandolapril (ver dosis en Materiales y Métodos) al compararla con la utilizada en otro estudio (0,3 mg/kg), (Koffi y cols., 1998). Así mismo, la dosis de ibuprofeno habitualmente utilizada para tratar el dolor en ratas es de 15 mg/kg (Dávila y Zúñiga, 2016), pero se ha utilizado una dosis mucho más altas con el fin de provocar el DRA.

1.2 Análisis del balance hídrico

Hemos reducido el volumen de agua de bebida disponible en algunos grupos de nuestro modelo experimental (DES), para valorar su efecto sobre los distintos parámetros analizados, tomando en cuenta que la deshidratación es uno de los factores de riesgo asociados a la gravedad en el DRA. En la tabla 15 se muestra la evolución del balance hídrico en los diferentes puntos del estudio, donde los grupos controles (CT y CT+DES) mantiene un balance hídrico positivo en todos los puntos, pero se observa una ligera disminución de este en el grupo con restricción del volumen de agua (DES). Las ratas SHR de 3 y 7 meses de edad del grupo *TW* presentan una disminución estadísticamente significativa del balance hídrico en D6 con respecto a su basal y al grupo CT,

debido al efecto de la furosemida, pero sin llegar a un balance hídrico negativo. Sin embargo, las ratas SHR de 3 y 7 meses del grupo *TW*+DES presentan una disminución estadísticamente significativa del balance hídrico en D6 con respecto a su basal y con respecto al mismo punto de su grupo *CT*+DES, siendo en D6 el estado hídrico de los animales negativo.

Además, en los grupos con restricción del volumen agua (DES) y tratados con antihipertensivos, presentan un mayor descenso de la PA, aunque no estadísticamente significativo. Así mismo, el balance hídrico negativo en los animales puede actuar como un factor de riesgo, al provocar alteraciones en la regulación hemodinámica que afecta el gasto cardíaco, la volemia y la resistencia vascular periférica. Todo esto favorece la disminución de la PA y, por consiguiente, disminuye el flujo renal afectando negativamente la TFG y favoreciendo el desarrollo del DRA (Docherty y cols., 2021).

Balance hídrico				
Edad	Grupo Experimental	Basal	D4	D6
SHR 3 meses	CT	18,16 ± 3,91	25,5 ± 2,78	19,16 ± 2,20
	TW	17 ± 1,08	16,75 ± 1,75	6,12 ± 3,33 * #
	CT + DES	23,66 ± 5,91	10,83 ± 0,44	10,16 ± 0,44
	TW + DES	23,58 ± 2,67	6,33 ± 0,70	-3,41 ± 0,71 *** #
SHR 7 meses	CT	16,91 ± 0,62	18,58 ± 2,20	18,33 ± 0,62
	TW	15,25 ± 0,88	17,87 ± 2,42	0,31 ± 1,92 *** #
	CT+ DES	17,96 ± 2,79	10,83 ± 0,51	10,5 ± 0,51 *
	TW + DES	18,94 ± 1,53	4,2 ± 1,23	-2,11 ± 1,36 *** #

Tabla 15. Evolución del balance hídrico de los diferentes grupos experimentales. Los datos representan la media ± EEM. * p<0,05 y *** p<0,01 respecto a la muestra basal del grupo, # p<0,05 respecto al grupo control en el mismo día de tratamiento. *CT*: control; *CT*+DES: control + deshidratación; *D4*: día 4; *D6*: día 6; *SHR*: ratas espontáneamente hipertensas; *TW*: *Triple Whammy*, *TW*+DES: *Triple Whammy* + deshidratación.

De acuerdo con estos resultados, los animales del grupo *TW+DES* presentan un balance hídrico negativo que los lleva a desarrollar una deshidratación, y que junto a otras comorbilidades puede jugar un papel importante en el desarrollo del DRA prerrenal. Esto se evidencia en diferentes estudios que relacionan la deshidratación con el DRA, ya que puede ser la causa del 47 % de los casos en todas las poblaciones, pero sobre todo en personas mayores donde se observa mayor gravedad; lo que provoca mayor estancia hospitalaria, mayor mortalidad y, por consiguiente, peor pronóstico (Amin y cols., 2019; Chapman y cols., 2020; El-Sharkawy y cols., 2017; Lameire y cols., 1999). Ahora bien, en cuanto a los efectos que pudiera provocar la diferencia entre las edades de los dos grupos (3 y 7 meses), los valores encontrados no aportan suficiente información para demostrar que la edad de estas ratas afecte o condicione su estado hídrico, ya que tanto en las ratas de 3 meses como en las de 7 meses del grupo *TW+DES* se puede observar un balance hídrico negativo independiente de la edad.

1.3 Efecto de la deshidratación y la edad sobre la función renal

Tomando en cuenta el efecto producido por los fármacos y la restricción del volumen de agua (DES) sobre los niveles de PA en los animales de 3 y 7 meses, decidimos analizar como el balance hídrico y la edad pueden afectar los distintos parámetros clásicos de función renal, como son la CrP, la urea plasmática y el ClCr, los cuales son utilizados para el diagnóstico del DRA.

1.3.1 Análisis de la creatinina y urea plasmática

La creatinina y la urea son compuestos nitrogenados, el primero se produce por el metabolismo normal del músculo y el segundo por la degradación de las proteínas. La creatinina se filtra y elimina por el riñón casi en su totalidad, pero un pequeño porcentaje se secreta a los túbulos renales para finalmente eliminarse por la orina. La CrP se utiliza como indicador del estado de la función renal pues cuando no se filtra, sus niveles aumentan en sangre, y se utiliza como un estimador de la capacidad de filtración renal en el diagnóstico del DRA o en la ERC.

En la figura 19, podemos observar como las ratas del grupo *TW+DES* de 3 y 7 meses presentan un aumento significativo de la CrP en D6 con respecto a su basal y con respecto al D6 del grupo *CT+DES*, lo que evidencia que la triple terapia en combinación con una restricción del volumen de agua (*DES*) predispone el desarrollo del DRA. Sin embargo, las ratas tratadas solo con el *TW*, aunque presentan un ligero aumento de la CrP, no sobrepasan 1,5 veces los niveles basales, por lo cual no se cumple el criterio KDIGO para considerar que este grupo tenga un DRA. Así mismo, este incremento en los valores de la CrP es muy similar en ambas edades en su respectivo grupo experimental, es decir, que no observamos diferencias entre las ratas de 3 y 7 meses, confirmando que la diferencia de edad en nuestro modelo no afecta los valores de la CrP.

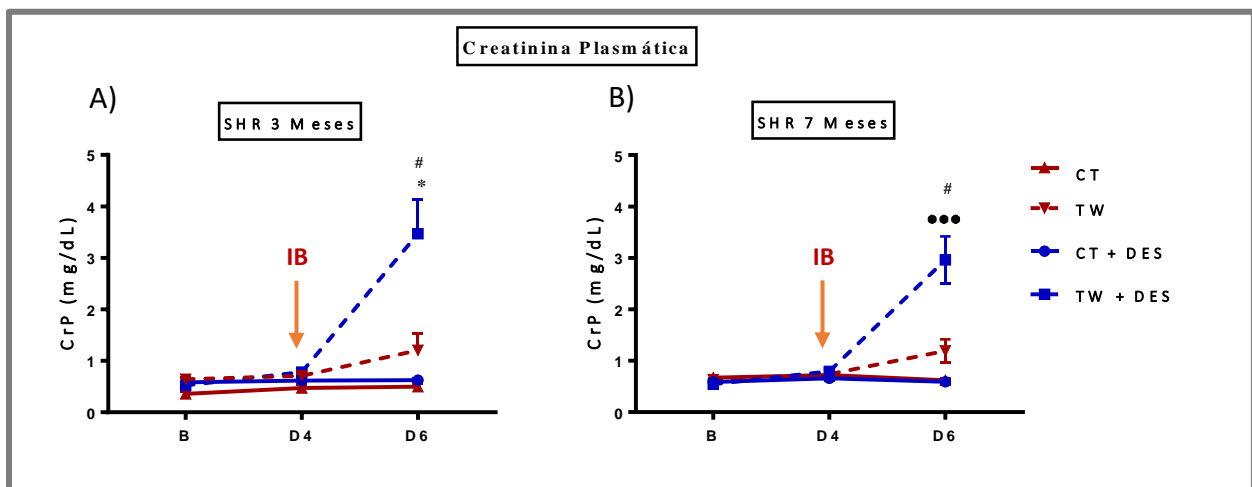


Figura 19. Evolución de la creatinina plasmática en los diferentes grupos experimentales. A) Ratras SHR 3 meses, B) Ratras SHR 7 meses. Los datos representan la media \pm EEM. * $p < 0,05$ y *** $p < 0,01$ respecto a la muestra basal del grupo, # $p < 0,05$ respecto al grupo control en el mismo día de tratamiento. B: basal; CrP: creatinina plasmática; CT: control; CT+DES: control + deshidratación; D4: día 4; D6: día 6; IB: ibuprofeno; SHR: ratas espontáneamente hipertensas; *TW*: Triple Whammy; *TW+DES*: Triple Whammy + deshidratación.

En la figura 20, podemos observar que las ratas de 3 y 7 meses del grupo *TW+DES* presentan un aumento significativo de los valores de urea plasmática en D6 y con respecto al D6 del grupo *CT+DES*, al mismo tiempo estos valores son mucho más elevados que los observados en los animales que no están sometidos a una restricción de volumen (*TW*), por lo cual la restricción del volumen de agua si afecta los niveles de urea plasmática de los animales cuando son tratados con la triple terapia, favoreciendo que el aumento de este metabolito sea mucho mayor.

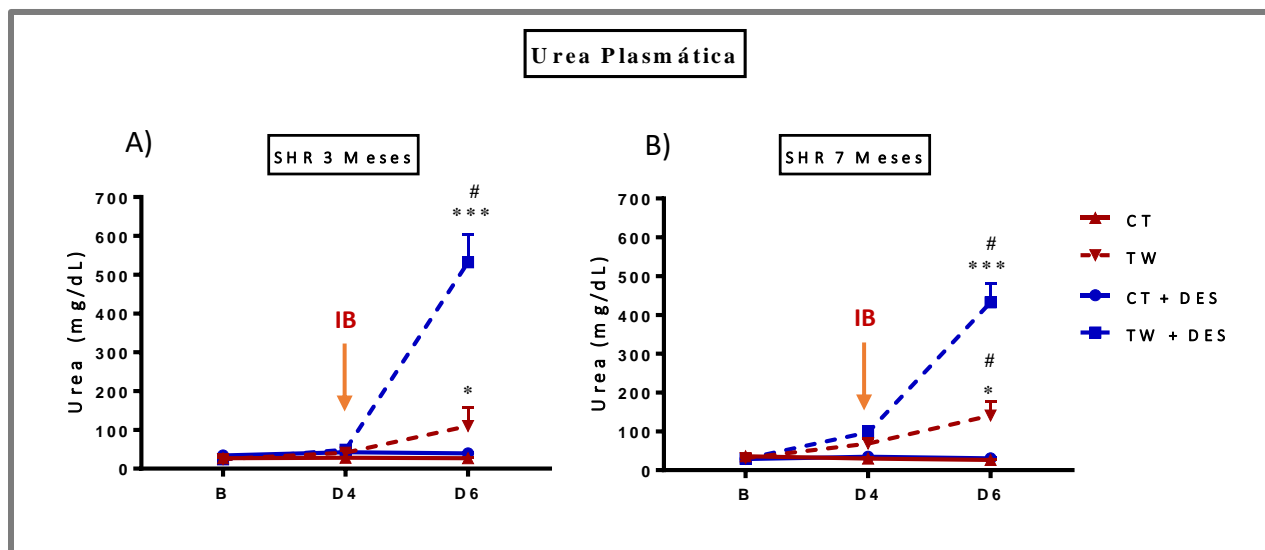


Figura 20. Evolución de la urea plasmática en los diferentes grupos experimentales. A) Ratas SHR 3 meses, B) Ratas SHR 7 meses. Los datos representan la media \pm EEM. * $p < 0,05$ y *** $p < 0,01$ respecto a la muestra basal del grupo, # $p < 0,05$ respecto al grupo control en el mismo día de tratamiento. B: basal; CT: control; CT+DES: control + deshidratación; D4: día 4; D6: día 6; IB: ibuprofeno; SHR: ratas espontáneamente hipertensas; TW: Triple Whammy; TW+DES: Triple Whammy + deshidratación.

Así mismo, podemos observar un aumento significativo en los valores de la urea plasmática en las ratas de 3 y 7 meses de edad del grupo TW en D6 con respecto a su basal, y un aumento con respecto al D6 de su grupo CT en las ratas de 7 meses. A pesar de este ligero aumento, los valores de urea plasmática observados entre las ratas de 3 y 7 meses son muy similares, lo que indica que la diferencia de edad no afecta significativamente los valores de este marcador como tampoco sucede en el grupo TW+DES.

1.4 Estimación de la tasa de filtración glomerular

A pesar de las limitaciones que tiene la creatinina para el diagnóstico del DRA, el aclaramiento de creatinina (CICr) se utiliza como parámetro directo y fiable para estimar la TFG, debido a que la excreción de este metabolito en la orina depende principalmente de una buena filtración glomerular (Shahbaz y Gupta, 2021), además, basar el diagnóstico del DRA solo con los valores de la CrP y de urea no siempre es un indicador fidedigno de la reducción real del FG.

En la figura 21, podemos observar una disminución estadísticamente significativa del ClCr en D6 con respecto a su basal y al D6 de su grupo CT+DES en las ratas SHR de 3 y 7 meses del grupo *TW*+DES, por lo cual la deshidratación puede ser un factor de riesgo que favorece la disminución de la TFG. Estos datos corroboran que las ratas tratadas con la triple terapia y con restricción del volumen de agua (*TW*+DES) presentan una disminución mayor de la TFG que la observada en el grupo *TW*.

En la figura 21, se puede observar que las ratas SHR de 3 meses de edad del grupo *TW* presentan una disminución significativa del ClCr en D6 con respecto al D6 de su grupo CT, pero no así con respecto a su basal, en cambio las ratas SHR de 7 meses de edad del grupo *TW*, presentan una disminución del ClCr en D6 con respecto a su basal y al D6 de su grupo CT, sin embargo, esta disminución es muy similar entre ambos grupos de edades y no se observan diferencias importantes.

Por otro lado, también podemos apreciar que en todos los grupos donde disminuye la TFG se observa un incremento de la CrP y de la urea (Figuras 19 y 20). Existe una relación inversa entre la TFG (medida por el aclaramiento de la creatinina) y la CrP. Sin embargo, se sabe que una reducción inferior del 60 % de la TFG no da lugar a un aumento de la CrP. Estos datos verifican que es necesario que la TFG se reduzca un 60-70 % para que la CrP comience a aumentar (Göcze y cols., 2017), como podemos observar en el grupo *TW* donde hay una ligera disminución de la TFG, pero que no llega a producir un aumento considerable en los niveles de CrP, contrario al grupo *TW*+DES que presenta una mayor reducción en la TFG y, por ende, valores de CrP más elevados.

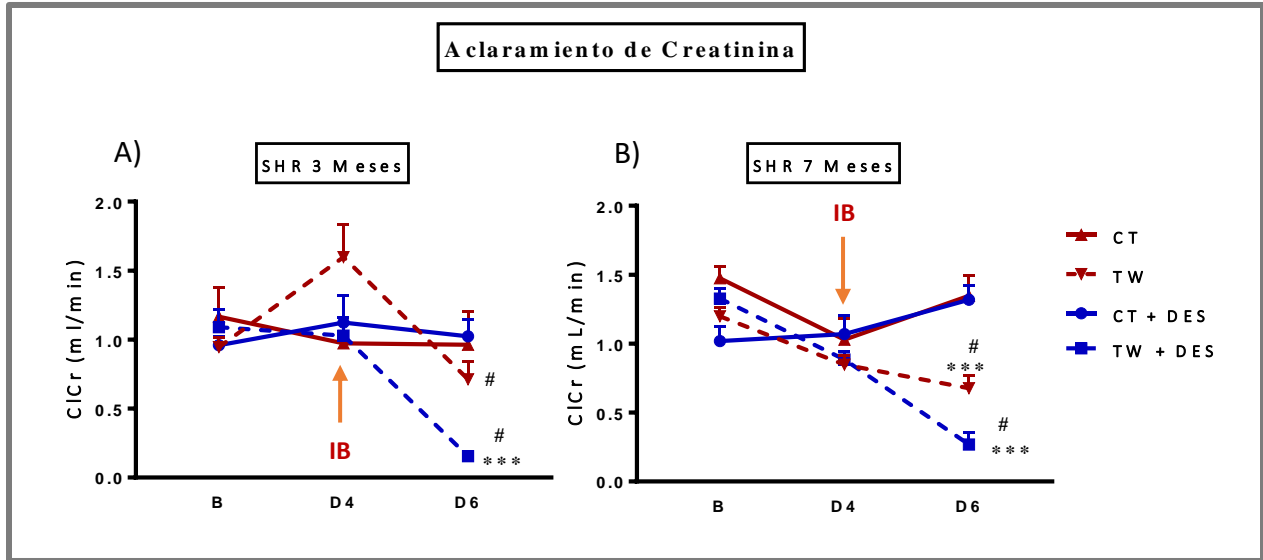


Figura 21. Representación del aclaramiento de creatinina en los diferentes grupos experimentales. A) Ratas SHR 3 meses, B) Ratas SHR 7 meses. Los datos representan la media \pm EEM. * $p < 0,05$ y *** $p < 0,01$ respecto a la muestra basal del grupo, # $p < 0,05$ respecto al grupo control en el mismo día de tratamiento. B: basal; CICr: aclaramiento de creatinina; CT: control; CT+DES: control + deshidratación; D4: día 4; D6: día 6; IB: ibuprofeno; SHR: ratas espontáneamente hipertensas; TW: Triple Whammy; TW+DES: Triple Whammy + deshidratación.

En resumen, con los datos obtenidos podemos decir que las ratas del grupo TW+DES presentan un DRA, definido por un incremento de la CrP y de la urea, acompañado de una disminución de la TFG. Este DRA no es tan evidente en el grupo TW, por lo que nuestros resultados demuestran que necesitamos un cuarto factor para producir el DRA con la triple terapia, como puede ser la deshidratación, producido por la restricción del volumen de agua (DES). Nuestros resultados se asemejan a un estudio que demostró como la deprivación de agua en ratas embarazadas y no embarazadas provocan una disminución del CICr (Salas y cols., 2004). Por otro lado, investigadores lograron desarrollar un modelo de DRA inducido por medios de contraste, donde uno de los elementos necesarios era la deshidratación junto al contraste iohexol y comprobaron que combinados favorecían el aumento de la CrP y de la urea en tan solo horas, y que no era reversible con la hidratación (Liu y cols., 2019).

En nuestro modelo de DRA inducido por la triple terapia podemos ver que las ratas con edades de 3 y 7 meses no presentan diferencias significativas en los valores de la CrP, urea y CICr; esto podría deberse a que entre estas ratas jóvenes (1-4 meses) y adultas (5-8 meses), no hay grandes cambios fisiológicos. Sin embargo, un estudio comparó los niveles de CrP y urea en ratas

algodoneras hembras y machos con anemia de tipo renal en diferentes grupos de edades: jóvenes, adultas, envejecidas (9-12 meses) y ratas de edad avanzada (13-17 meses), donde observaron un aumento de la CrP y la urea en los dos grupos de mayor edad (Ichii y cols., 2020); otro estudio demostró que la administración de gentamicina a ratas Wistar de 24 meses con y sin DM provocaba nefrotoxicidad al presentar un aumento de la urea, de la CrP y una disminución del CICr y por tanto, mayor nefrotoxicidad que la observada en ratas con el mismo tratamiento pero solo con 1 mes de edad (Ali y cols., 1996). Por eso, a pesar de que en nuestro modelo no encontramos diferencias entre las ratas jóvenes (3 meses) y adultas (7 meses), sí está demostrado que a mayor edad las ratas son más susceptibles al daño renal, por lo cual sería necesario reproducir nuestro modelo en un futuro, en edades más avanzadas en busca de estas diferencias.

2. Caracterización del tipo de daño renal agudo

En el siguiente apartado decidimos analizar diferentes parámetros relacionados con el daño renal para determinar el tipo de DRA que se produce en nuestro modelo experimental.

2.1 Concentración de proteínas en la orina

En condiciones normales las proteínas no se filtran por el glomérulo y si alguna proteína con bajo peso molecular especialmente la albumina se escapa a esta barrera, es reabsorbida por las células epiteliales del túbulo proximal. Se llama proteinuria al aumento de la excreción de proteínas, el cual es un indicador de daño renal y se produce especialmente en el DRA de tipo renal (intrínseco) inducido por diferentes nefrotóxicos, enfermedades autoinmunes o vasculares, entre otras causas (Regeniter y cols., 2009; Peregrín y cols., 2019). La proteinuria es consecuencia de dos mecanismos: el aumento en la filtración de proteínas por un aumento anormal de la permeabilidad de la pared del capilar glomerular, y por la disminución de la capacidad de reabsorción de las células epiteliales del túbulo proximal (D'Amico y Bazzi, 2003).

El rango normal de excreción urinaria de proteínas en una rata de laboratorio se encuentra alrededor de los 5-10 mg/día y puede aumentar hasta 10 veces en modelos de necrosis tubular (Apausa Cuesta, 2019; Blanco-Gozalo, 2017). En nuestro modelo experimental no observamos un aumento en la excreción de proteínas en ninguno de los grupos (Figura 22). Sin embargo, si se puede ver una disminución en la excreción de proteínas en D6 con respecto al basal, sobre todo en el grupo *TW+DES*.

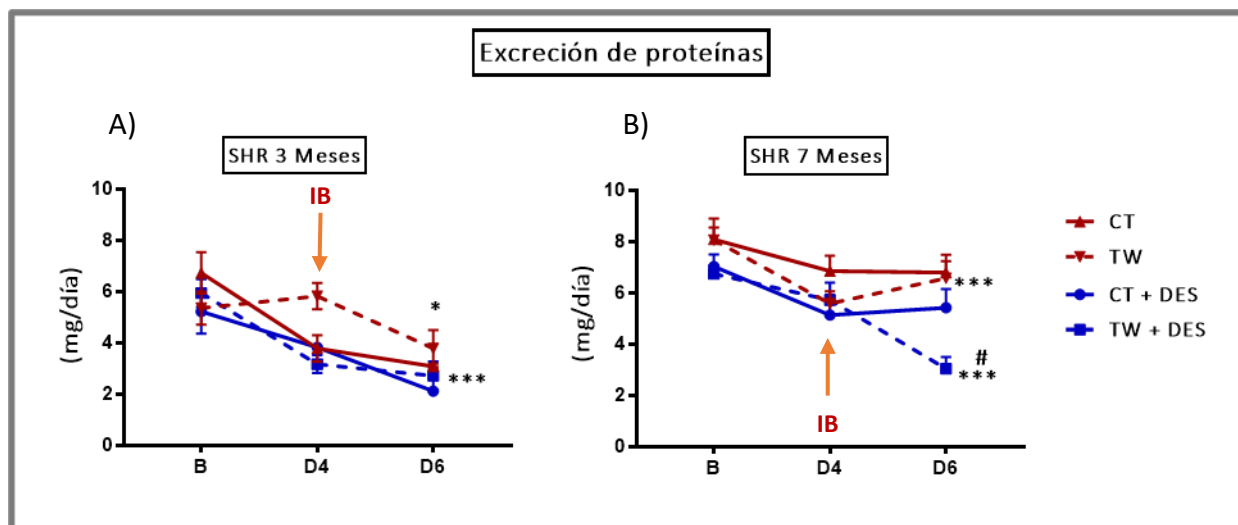


Figura 22. Representación de la excreción de proteínas en los diferentes grupos experimentales. A) Ratras SHR 3 meses, B) Ratras SHR 7 meses. Los datos representan la media \pm EEM. * $p < 0,05$ y *** $p < 0,01$ respecto a la muestra basal del grupo, # $p < 0,05$ respecto al grupo control en el mismo día de tratamiento. B: basal; CT: control; CT+DES: control + deshidratación; D4: día 4; D6: día 6; IB: ibuprofeno; SHR: ratas espontáneamente hipertensas; TW: *Triple Whammy*, TW+DES: *Triple Whammy* + deshidratación.

La evidencia actual demuestra el efecto anti-proteinúrico de los AINEs (Vogt y cols., 2010) y los IECAs (Mallamaci y cols., 2011). Al observar los valores en D4 del grupo *TW* y *TW+DES* podemos ver que en este punto empieza a disminuir la excreción de proteínas, pero se hace más evidente al introducirse el ibuprofeno después del D4. Esto sugiere que ambos fármacos actúan juntos disminuyendo el número de proteínas que se filtra y, por ende, la cantidad que se excreta en la orina. Esto puede ser explicado porque los IECAs y los AINEs disminuyen la presión intraglomerular al inhibir la producción de PGs y de AngII (Vogt y cols., 2010). Los IECAs y los ARAII han demostrado que pueden disminuir la proteinuria en la nefropatía diabética y en la hipertensión por nefrosclerosis (Taal y Brenner, 1999).

2.2 Excreción fraccional de sodio

La EFNa es una variable útil para evaluar la integridad tubular, en las ratas el valor normal se sitúa en torno al 0,5 % (Quiros y cols., 2010). En la tabla 16 se muestran los distintos grupos experimentales, donde se observan que casi todos tienen una EFNa inferior al 1 %, lo cual se corresponde con los valores que se observan en el DRA de tipo prerrenal (Peregrín y cols., 2019); (Blanco-Gozalo, 2017). Esto indica un funcionamiento normal de los mecanismos recaptadores de Na^+ a lo largo de la nefrona y por extensión del funcionamiento y la homeostasis tubular, ya que el funcionamiento de la mayoría de los transportadores tubulares está directa o indirectamente acoplado al del Na^+ . Sin embargo, este valor estaría por encima del 1 % en el DRA de tipo renal, debido a que las células tubulares dañadas son incapaces de reabsorber correctamente dicho electrolito.

En la tabla 16 podemos observar que el grupo *TW+DES* de 7 meses presenta un aumento estadísticamente significativo de la EFNa en D6 con respecto a su basal y al mismo punto de su grupo *CT+DES*, alcanzando el 1 %. Lo cual puede ser explicado por el uso de la furosemida y del trandolapril en el modelo experimental, los cuales causan los siguientes efectos: la furosemida actúa a nivel del asa de Henle donde lleva a cabo su acción, al inhibir el cotransportador $\text{Na}^+-\text{K}^+-2\text{Cl}^-$, por lo cual inhibe la reabsorción de Na^+ haciendo que este aumente en la orina; y los IECAs, por otra parte, inhiben la síntesis de AngII, lo que disminuye la producción de aldosterona, causando una reducción en la reabsorción de Na^+ en el túbulo distal. Opuesto a lo anterior, las PGs inhiben la reabsorción de Na^+ en el asa de Henle y en el túbulo colector, por lo cual al inhibir las PGs con el ibuprofeno se produciría un aumento en la reabsorción, disminuyendo su excreción. Esto puede sugerir que en nuestro modelo experimental el efecto neto de la triple terapia favorece el aumento de la excreción de Na^+ , ya que el ibuprofeno solo se aplica en los dos últimos días, y los otros fármacos durante todo el experimento.

Excreción Fraccional de Sodio (EFNa)				
Edad	Grupo Experimental	Basal	D4	D6
SHR 3 meses	CT	0,07 ± 0,01	0,08 ± 0,00	0,21 ± 0,03 *
	TW	0,12 ± 0,01	0,36 ± 0,03 *	0,58 ± 0,18 *
	CT + DES	0,05 ± 0,01	0,10 ± 0,00	0,23 ± 0,04 *
	TW + DES	0,09 ± 0,01	0,31 ± 0,02 *	0,64 ± 0,13 *
SHR 7 meses	CT	0,15 ± 0,02	0,29 ± 0,02	0,27 ± 0,05
	TW	0,18 ± 0,01	0,61 ± 0,15 ***	0,63 ± 0,14 *
	CT + DES	0,14 ± 0,02	0,16 ± 0,02	0,16 ± 0,01
	TW + DES	0,13 ± 0,01	0,29 ± 0,04 *	1,04 ± 0,32*** #

Tabla 16. Representación de la excreción fraccional de sodio en los diferentes grupos experimentales. Los datos representan la media ± EEM. * $p < 0,05$ y *** $p < 0,01$ respecto a la muestra basal del grupo, # $p < 0,05$ respecto al grupo control en el mismo día de tratamiento. CT: control; CT+DES: control + deshidratación; D4: día 4; D6: día 6; EFNa: excreción fraccional de Na^+ ; SHR: ratas espontáneamente hipertensas; TW: Triple Whammy; TW+DES: Triple Whammy + deshidratación.

La furosemida puede influir en los valores de la EFNa por su efecto diurético, ya que favorece el aumento del flujo urinario (necesario para la estimación de la EFNa) y de la excreción del Na^+ . Pues observamos un aumento significativo de la EFNa en D6 con respecto al basal en todos los grupos tratados. Así mismo esto se corresponde con los resultados observados en D4, donde la doble terapia produce un leve aumento significativo de la EFNa, con respecto a su basal tanto en el grupo TW como en el TW+DES en ambas edades. Además, solo el grupo de ratas de 7 meses TW+DES presentan un aumento que alcanza al 1 % sin sobrepasarlo, pero este valor no es indicador de DRA tipo renal, porque como hemos dicho antes, en ninguno de los grupos la EFNa supera ampliamente el 1 %. De modo que, estos resultados demuestran que no hay diferencias importantes entre la edad de 3 y 7 meses de los animales tratados con la triple terapia en los valores de la EFNa, y que la deshidratación no provoca un aumento importante de este indicador, por lo tanto, esto podría descartar que los riñones presenten alguna alteración en la función tubular.

2.3 Caracterización histológica

Por medio de la tinción con hematoxilina y eosina de los cortes del tejido renal hemos analizado las características histológicas en el grupo de ratas SHR de 7 meses en D6 (Figura 23, 24 y 25). Evaluamos la presencia de alteraciones o modificaciones en los glomérulos, túbulos renales, vasos sanguíneos y en el intersticio en las siguientes áreas: corteza, médula externa y médula interna.

Corteza

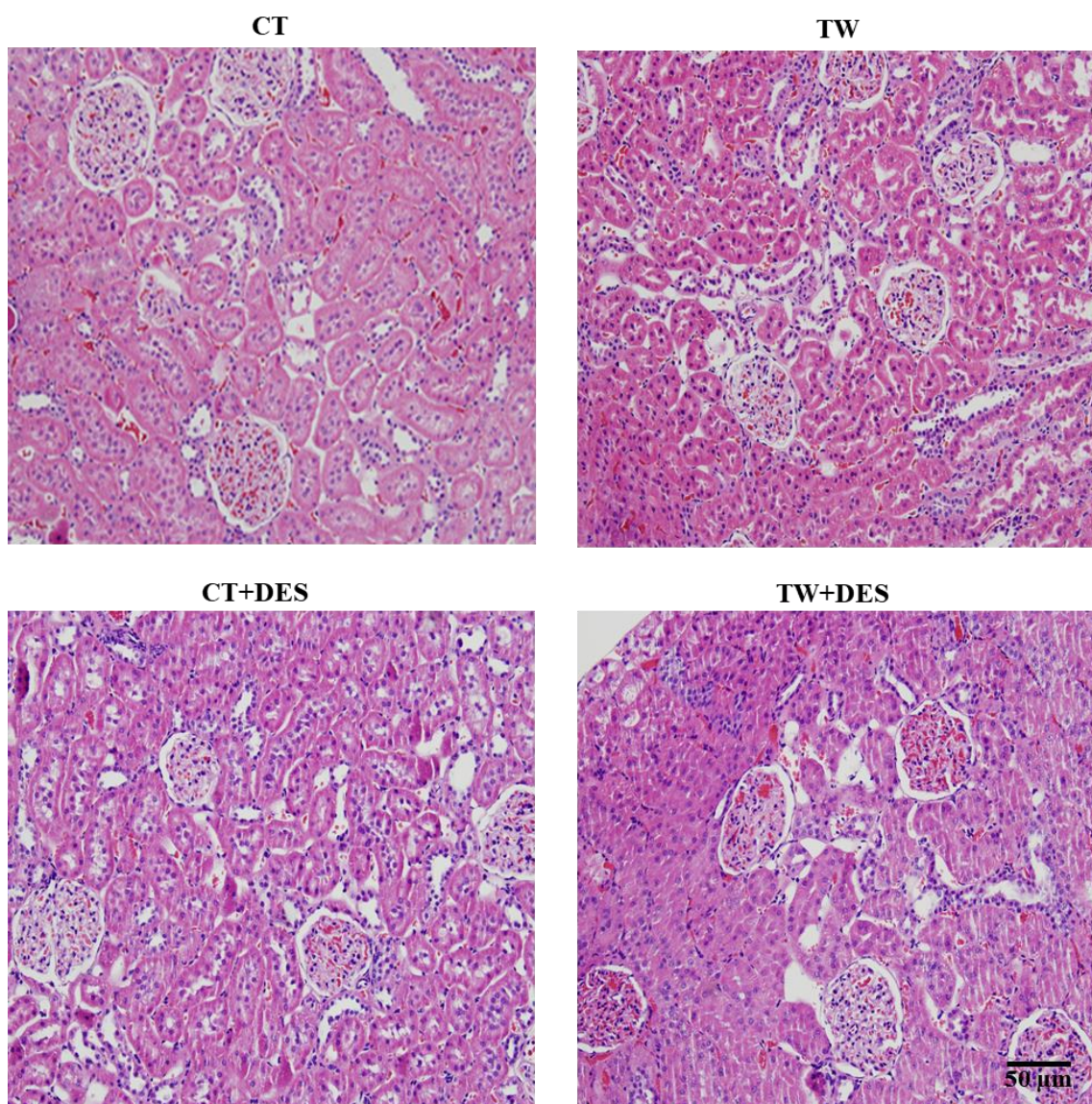


Figura 23. Imágenes representativas de cortes histológicos (200X) teñidos con hematoxilina-eosina procedentes de la corteza del grupo de ratas SHR de 7 meses en D6. CT: control; CT+DES: control + deshidratación; TW: Triple Whammy; TW+DES: Triple Whammy + deshidratación.

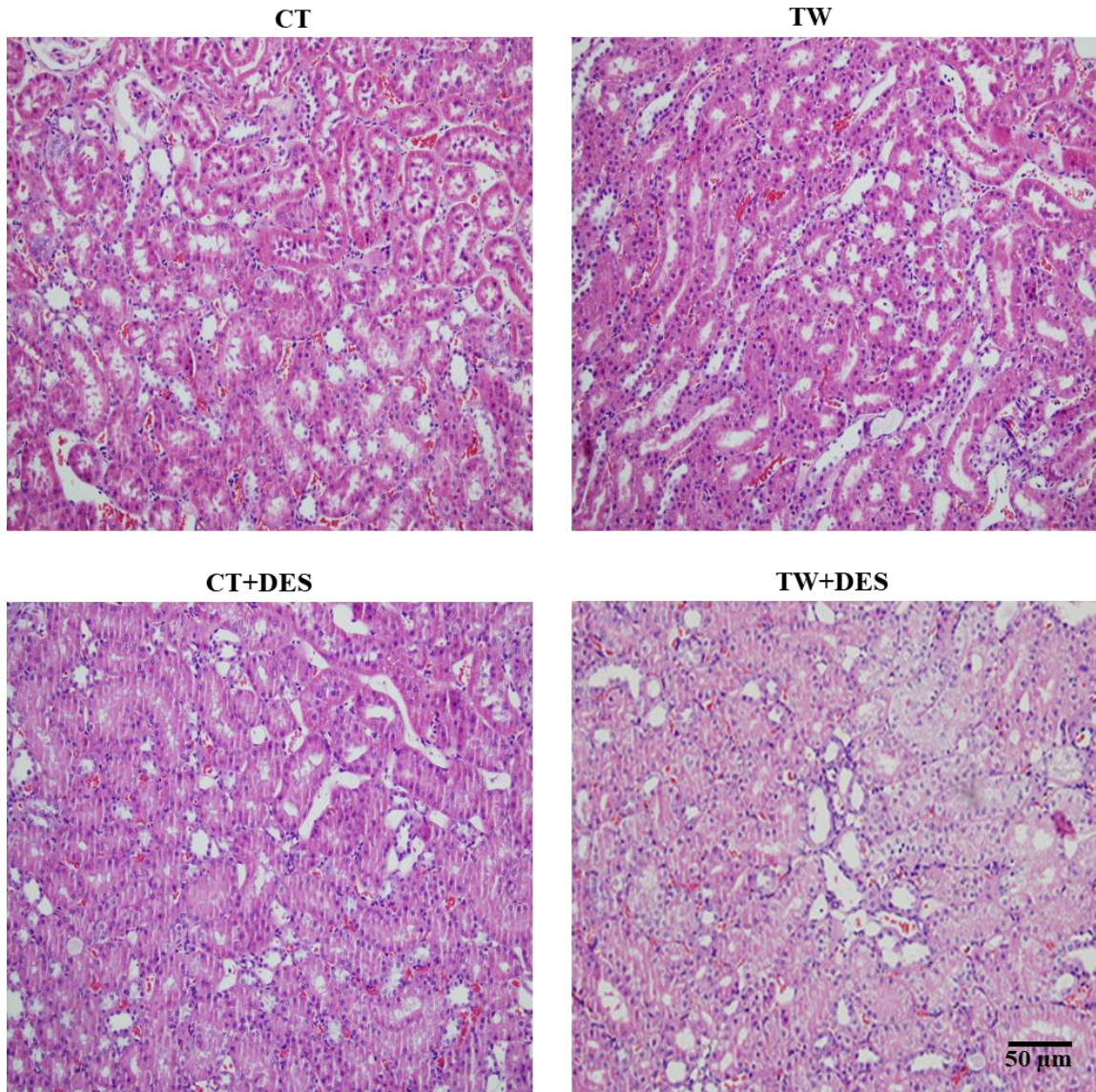
Médula Externa

Figura 24. Imágenes representativas de cortes histológicos (200X) teñidos con hematoxilina-eosina procedentes de la médula externa del grupo de ratas SHR de 7 meses en D6. CT: control; CT+DES: control + deshidratación; TW: *Triple Whammy*; TW+DES: *Triple Whammy* + deshidratación.

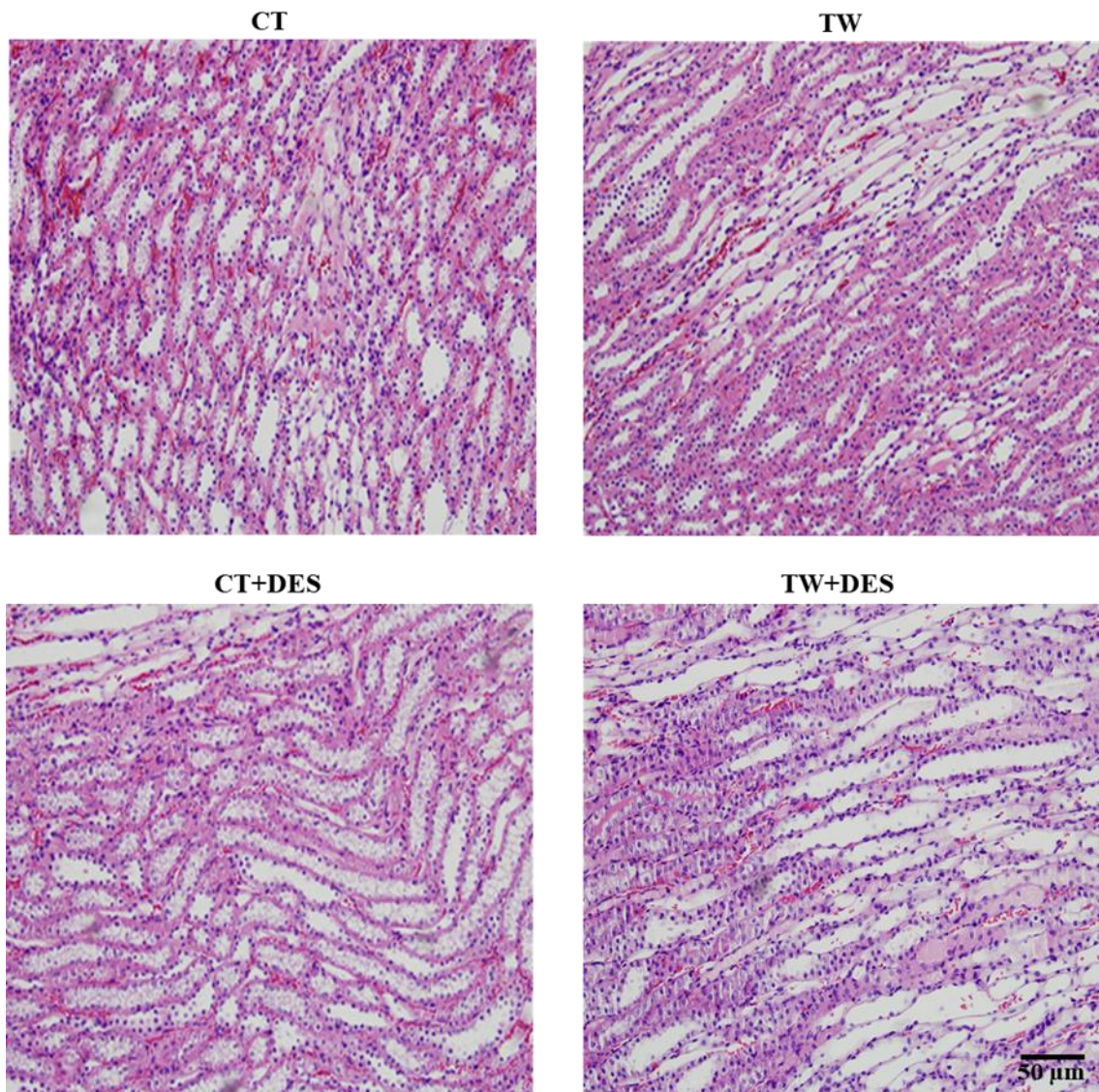
Médula Interna

Figura 25. Imágenes representativas de cortes histológicos (200X) teñidos con hematoxilina-eosina procedentes de la médula interna del grupo de ratas SHR de 7 meses en D6. CT: control; CT+DES: control + deshidratación; TW: *Triple Whammy*; TW+DES: *Triple Whammy* + deshidratación.

De acuerdo a lo observado en los cortes histológicos, se asignó el valor numérico 0 a todas las zonas analizadas, debido a que en ninguno de los grupos experimentales observamos alteraciones importantes (Figura 23, 24 y 25), evidenciando que la triple terapia en los grupos *TW* y *TW+DES* parece producir un DRA de tipo prerrenal, puesto que un daño en las estructuras renales hablaría a favor del DRA intrínscico. Sin embargo, la ausencia de alteraciones histológicas se deben a que el DRA prerrenal sucede en dos días, pero un DRA prerrenal mantenido en el tiempo acaba afectando al tejido renal.

2.4 Medida de marcadores urinarios para caracterizar el tipo de daño renal agudo

Con los resultados presentados hasta el momento, donde vemos que no se produce un aumento en la excreción de proteínas, con una EFNa por debajo del 1 % y sin alteraciones en las estructuras renales de los animales que han desarrollado un daño renal, podemos sugerir que el DRA inducido experimentalmente no es consecuencia directa de un daño en el parénquima, sino que es de tipo prerrenal.

Actualmente se han sumado al diagnóstico del DRA nuevos biomarcadores, pero se continúan aceptando como herramientas diagnósticas estándar la CrP, el ClCr, la proteinuria, o la EFNa en el DRA, aunque estos parámetros tienen importantes limitaciones. Actualmente existe una definición internacional consensuada del DRA a través de los criterios RIFLE, AKIN y KDIGO (Khwaja, 2012; Lopes y Jorge, 2013; Mehta y cols., 2007; Peregrín y cols., 2019; Ricci y cols., 2008; Searns y cols., 2020; Tsai y cols., 2017), que emplean los niveles de CrP para evaluar indirectamente la función renal. Sin embargo, la CrP solo detecta este síndrome cuando la TFG ha disminuido un 60-70 %, por lo que muchas veces se llega tarde al diagnóstico y las consecuencias suelen ser muy graves. Por lo cual, el uso de los nuevos biomarcadores se convierte en una herramienta muy importante con el fin de lograr una caracterización y un diagnóstico del DRA más preciso y acertado.

Sin embargo, independientemente de que la histología anteriormente mostrada no detecta daños estructurales significativos, no implica que estos existan. Por ello, nos hemos planteado analizar en la orina varios biomarcadores de daño renal que pueden ser útiles para evaluar el tipo y el grado del daño renal, y que nos permiten realizar una caracterización fisiopatológica de nuestro

modelo experimental. Dentro de estos biomarcadores hemos escogido tres: la NAG, presente cuando hay afectación de estructuras tubulares de la nefrona; la NGAL, relacionado con el daño del túbulo proximal y con el túbulo colector; y el PAI-1 que se ha detectado en la orina y se asocia, entre otros, al daño del endotelio vascular.

2.4.1 N-acetil-β-D-glucosaminidasa o NAG

La NAG (N-acetil-β-D-glucosaminidasa) es una enzima lisosomal que cuando aumenta en la orina es indicador de disfunción tubular renal. No se filtra por la membrana basal glomerular debido a su alto peso molecular, pero su detección es útil en el diagnóstico y seguimiento de nefropatías siendo un marcador muy sensible de daño tubular proximal y de la nefrotoxicidad. Además, es fácil de cuantificar debido a que los kits de NAG son muy sensibles y permiten la posibilidad de diluir la orina, lo que le convierte en uno de los biomarcadores más citados (Bosomworth y cols., 1999). Numerosos estudios evidencian la capacidad de NAG para realizar un diagnóstico temprano y establecer predicción en la ERC, considerándole también como un biomarcador de DRA (Fu y cols., 2011; Geus y cols., 2012; Siddiqui y cols., 2019).

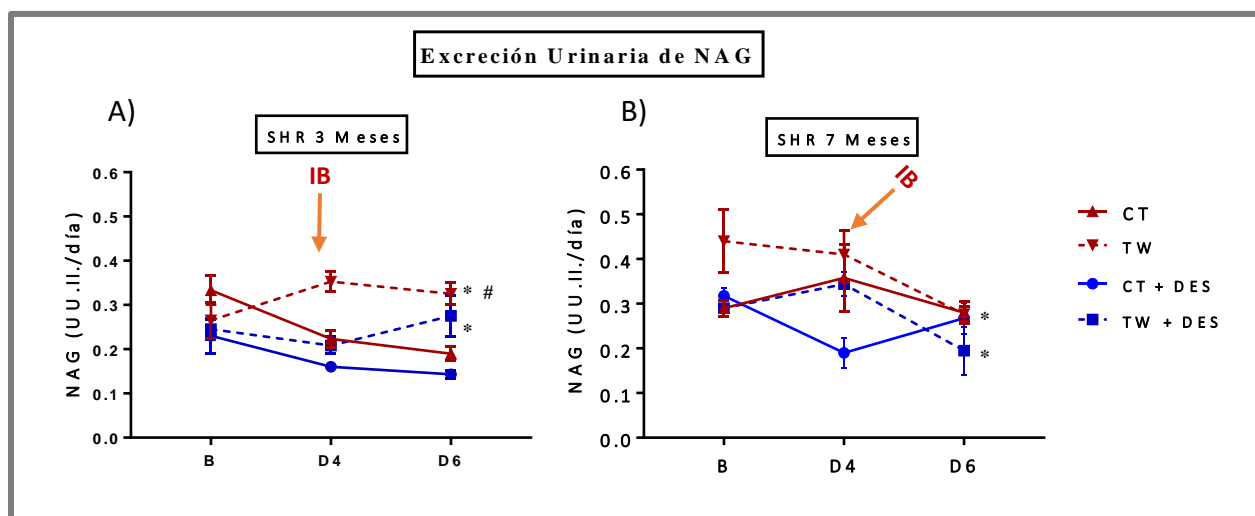


Figura 26. Excreción urinaria de NAG. A) Ratas SHR 3 meses, B) Ratas SHR 7 meses. Los datos representan la media ± EEM. * $p < 0,05$ respecto a la muestra basal del grupo, # $p < 0,05$ respecto al grupo control en el mismo día de tratamiento. B: basal; CT: control; D4: día 4; D6: día 6; CT+DES: control + deshidratación; IB: ibuprofeno; NAG: N-acetil-βglucosaminidasa; SHR: ratas espontáneamente hipertensas; TW: Triple Whammy; TW+DES: Triple Whammy + deshidratación.

En nuestro estudio (Figura 26), los animales de 3 y 7 meses del grupo *TW*, *TW+DES*, así como los *CT* y *CT+DES* de ambas edades, no presentan cambios importantes en la excreción de este biomarcador (independientemente de que existan ciertas diferencias estadísticamente significativas entre los grupos experimentales), dado que los valores normales se sitúan en torno a 0,2 UI/día y ninguno de los grupos supera el valor de 0,5 UI/día. El grado de hidratación y la diferencia entre las edades de 3 y 7 meses no parece afectar la excreción de NAG en las ratas de nuestro modelo experimental. Estos resultados concuerdan con otros modelos de DRA prerrenal donde este biomarcador no suele estar aumentado.

2.4.2 Lipocalina asociada a la gelatinasa de neutrófilos o NGAL

La NGAL (del inglés *Neutrophil gelatinase-associated lipocalin*) es una pequeña molécula de aproximadamente 25 kDa, que pertenece a la superfamilia de proteínas lipocalinas (Bolignano y cols., 2008). Puede existir como un homodímero de 45 kDa o como un heterodímero de 135 kDa unido por un enlace disulfuro a la metaloproteinasa-9 de la matriz de colagenasa tipo IV (MMP-9) y se expresa en numerosos órganos y tipos de células, incluidos los bronquios, el timo, el estómago, el intestino delgado, páncreas, próstata, riñón e hígado (Sancho-Martínez, 2020). La expresión de NGAL se puede observar tanto en el tejido humano como en roedores en respuesta a inflamación, infección, intoxicación, isquemia y neoplasia; convirtiéndose en un potente biomarcador clínico para detectar diversas enfermedades y disfunción de órganos (Blázquez-Medela y cols., 2014; Sancho-Martínez y cols., 2020). Así mismo NGAL es considerado un marcador de DRA muy sensible y de aparición temprana (Winkelmayer y cols., 2002) ya que se anticipa a la elevación de los marcadores convencionales de daño renal como la CrP, aumentando su capacidad pronóstica (Zczech y Azar, 2004). Por otro lado, NGAL se puede detectar en condiciones normales en bajas cantidades en orina ya que la mayoría es reabsorbida. Sin embargo, inmediatamente a la aparición de un DRA se produce un aumento en los niveles plasmáticos y urinarios de NGAL, presumiblemente debido al incremento de la secreción apical y basolateral del epitelio de la nefrona y, por otro lado, al deterioro de la reabsorción tubular proximal por un daño tubular proximal, que puede potenciar aún más el aumento de NGAL en la orina (Schmidt-ott, 2011; Singer, y cols., 2013).

Hemos analizado la excreción de NGAL en las ratas de 3 y 7 meses, donde observamos (Figura 27) que los valores de este marcador aumentan en el grupo *TW* en el D6 en ambas edades, siendo estadísticamente significativo en las ratas con restricción del volumen de agua (*TW+DES*). Por tanto, los niveles de NGAL son mayores en el grupo de ratas que han desarrollado un DRA.

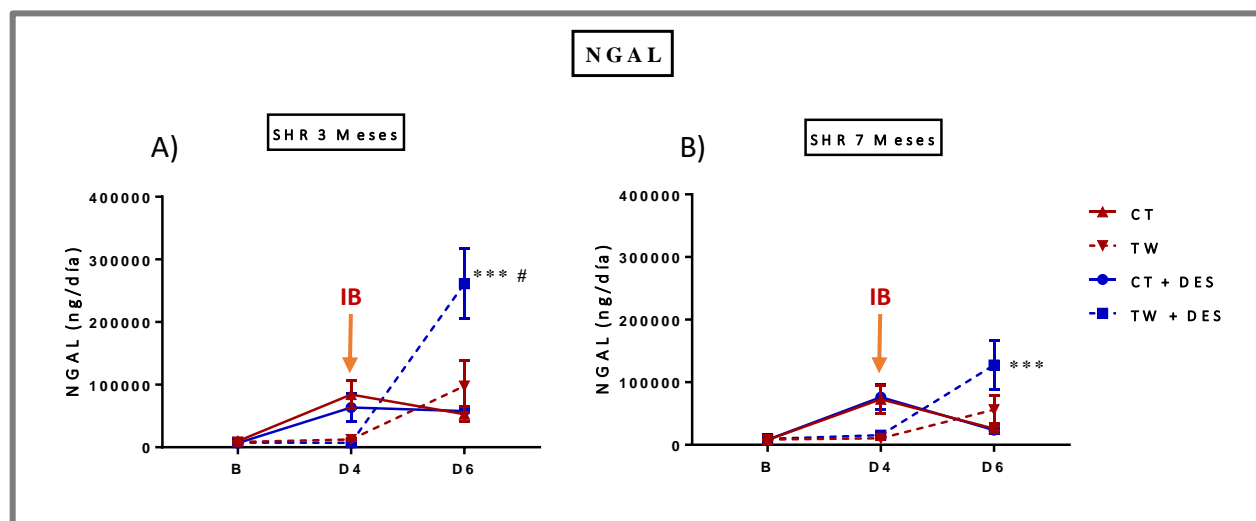


Figura 27. Excreción urinaria de NGAL. A) Ratas SHR 3 meses, B) Ratas SHR 7 meses. Los datos representan la media \pm EEM. *** $p < 0,01$ respecto a la muestra basal del grupo, # $p < 0,05$ respecto al grupo control en el mismo día de tratamiento. B: basal; CT: control; D4: día 4; D6: día 6; CT+DES: control + deshidratación; IB: ibuprofeno; NGAL: Lipocalina asociada a la gelatinasa de neutrófilos; SHR: ratas espontáneamente hipertensas; *TW*: *Triple Whammy*; *TW+DES*: *Triple Whammy* + deshidratación.

Estos resultados difieren con un estudio realizado en pacientes con diferentes tipos de daño renal donde se observó que en el DRA prerrenal no aumenta los niveles de NGAL (Nickolas y cols., 2008); por otro lado, el efecto de los diuréticos no aumenta los niveles de esta molécula en ratones (Mori y Nakao, 2007; Nickolas y cols., 2008). Sin embargo, en un estudio realizado con pacientes en edad pediátrica se encontró que los niveles de NGAL sí aumentaban en plasma y orina en presencia de deshidratación moderada, indicando que la deshidratación puede afectar la severidad del DRA (Çelik y cols., 2013). Así mismo, los niveles de NGAL aumentaron en plasma en pacientes con deshidratación debido a diarreas y vómitos, sugiriendo que este biomarcador puede ser muy sensible para detectar DRA prerrenal incipiente o silente en presencia de deshidratación (Antonopoulos y cols., 2011). Por ello, los valores aumentados de NGAL en los animales tratados con *TW+DES* puede deberse a la deshidratación que provoca el balance hídrico negativo, por la restricción del volumen de agua. También la HTA como factor de riesgo en

nuestros animales puede influir en los niveles de este marcador, ya que otros estudios en ratas SHR demuestran que NGAL puede aumentar en enfermedades como la HTA (Blázquez-Medela y cols., 2014). Sin embargo, no se puede descartar la posibilidad de estar en presencia de un DRA mixto, de modo que el daño no sea prerrenal puramente y se encuentre asociado a un DRA renal incipiente ya que fármacos como los diuréticos (Makris y Spanou, 2016), IECAs (Farrar, 2018) y el ibuprofeno pueden afectar el intersticio y provocar un DRA de tipo renal (Farrar, 2018; Faught y cols., 2014; Makris y Spanou, 2016; Washinger, 2017). Además, como hemos dicho anteriormente, por el hecho de que el estudio histológico no detecte la presencia de daño en la estructura renal no significa que no existe, ya que el DRA de tipo renal existente se encontraría en una etapa temprana y por la corta evolución no daría lugar a la aparición de daño en la estructura renal. De ser así, este marcador se anticipa al diagnóstico histológico y resulta ser mucho más sensible y precoz.

2.4.3 Inhibidor del activador de plasminógeno o PAI-1

El PAI-1 (del inglés, plasminogen activator inhibitor type 1) es una glicoproteína monocatenaria de 50 kDa perteneciente a la familia de las serpinas que existe en formas conformacionalmente activas o latentes. Es inhibidor fisiológico del activador tisular del plasminógeno (t-PA) y de la uroquinasa (uPA), por lo cual funciona casi exclusivamente como un mediador intravascular que favorece la fibrinólisis y la eliminación de coágulos. Por otro lado, PAI-1 está implicado en diferentes procesos fisiopatológicos a nivel renal, sobre todo en el DRA (microangiopatía trombótica, glomerulonefritis proliferativa, nefropatía membranosa, vasculitis renal) así como en la ERC progresiva y la nefropatía diabética. De igual modo, se ha demostrado que PAI-1 influye en la patogénesis del daño vascular que induce la HTA (Eddy, 2002), y está asociado con la obesidad, la DM y las enfermedades cardiovasculares (Ghosh y Vaughan, 2012).

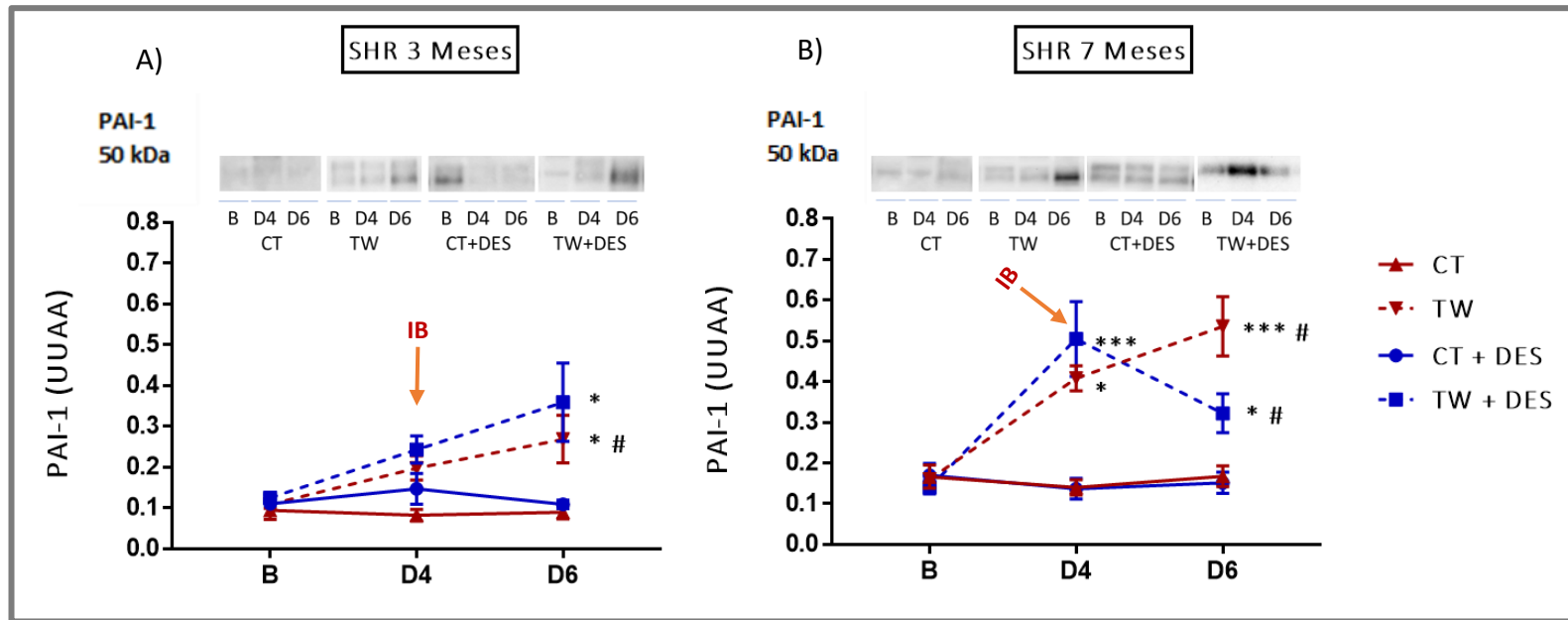


Figura 28. Imagen representativa de Western blot y cuantificación de PAI-1. A) Ratas SHR de 3 meses, B) Ratas SHR de 7 meses. Los datos representan la media \pm EEM. * $p < 0,05$ y *** $p < 0,01$ respecto a la muestra basal del grupo, # $p < 0,05$ respecto al grupo control en el mismo día de tratamiento. B: basal; CT: control; CT+DES: control + deshidratación; D4: día 4; D6: día 6; IB: ibuprofeno; PAI-1: inhibidor del activador de plasminógeno; SHR: ratas espontáneamente hipertensas; TW: Triple Whammy; TW+DES: Triple Whammy + deshidratación.

En nuestro modelo experimental, podemos observar que los niveles de PAI-1 aumentan desde el D4 en las ratas de 3 y 7 meses (Figura 28) en los grupos *TW* y *TW+DES*. Es posible que este aumento se deba a una mayor activación del SRAA en las SHR (Antonaccio y Kerwin, 1980; Garst y cols., 1979; Haddad y Garcia, 1996; Hefti y cols., 1985), (que se describe más adelante), ya que algunos estudios en cultivos celulares renales evidencian que la AngII y los demás componentes del sistema como la renina y la aldosterona, aumentan la expresión de TFG- β y este a su vez, promueve la síntesis de PAI-1 (Huang y cols., 2001; Wolf, 2006). Estos resultados reflejan que las diferencias entre las edades de estos animales y la deshidratación no afectan a los niveles de PAI-1, y que el aumento se observa por igual en todos los grupos tratados con la triple terapia. Así mismo, PAI-1 presenta una tendencia de excreción distinta a los otros marcadores urinarios antes mencionados, lo que sugiere que PAI-1 proporciona información fenotípica complementaria y diferente. PAI-1 urinario es un biomarcador producido en un riñón disfuncional, que se asocia a un DRA grave, y podría ser un indicador de daño inflamatorio inducido por el endotelio, y no de tipo parenquimatoso; aun así, es necesario investigar en profundidad el significado fisiopatológico preciso del papel que juega PAI-1 en el DRA (Paniagua-Sancho y cols., 2021). De igual forma, PAI-1 puede ser determinante para el diagnóstico del DRA prerrenal, pues se sabe que sus niveles aumentan en los procesos inflamatorios del riñón (D'Elia, 2016) y se ha visto que la supresión de PAI-1 disminuye el nivel de daño renal provocado por la inflamación en ratones con un DRA inducido por sepsis (Gupta, y cols., 2015).

En conclusión, estos resultados evidencian que nuestro modelo no presenta alteraciones estructurales importantes o detectables por medio del estudio histológico, tampoco están alterados los mecanismos implicados en la excreción de proteínas y en la excreción de Na^+ . Pero esto no quiere decir que no existan alteraciones a este nivel que incidan en la evolución y en la gravedad del DRA. Estos resultados parecen mostrar que el DRA observado en el grupo *TW+DES* es prerrenal o hemodinámico, pero debido a los resultados de PAI-1 y NGAL no descartamos la posibilidad de un DRA renal incipiente por todo lo explicado anteriormente.

3. Análisis de la red de regulación hemodinámica

Con el fin de conocer el estado de la red hemodinámica, así como su implicación fisiopatológica en nuestro modelo de DRA, hemos estudiado distintos componentes relacionados con la regulación de la PA y de la volemia, como son el SRAA (Ang I y Ang II), la ADH y la NA.

3.1 Sistema Renina-Angiotensina-Aldosterona

El SRAA es un elemento crucial en la regulación sistémica de la PA y del balance hídrico, pero la hiperactividad de la AngII sobre el riñón está relacionada con daño renal severo, nefropatías, estenosis de la arteria renal y con el DRA (Sharmay cols., 2019). En nuestro estudio, analizamos algunos de los componentes del SRAA para evaluar el efecto de la triple terapia sobre el riñón y observar si estos componentes sufren variaciones en dependencia de la edad y del estado hídrico de los animales, pero, sobre todo, en el grupo *TW+DES*, el cual desarrolla un DRA.

3.1.1 Angiotensina I

En la figura 29 podemos observar que los niveles de AngI de las ratas SHR de 3 y 7 meses del grupo *TW* y *TW+DES*, aunque sufren fluctuaciones en los diferentes días del estudio, no presentan cambios significativos como consecuencia de la triple terapia, contrario a lo que cabría esperar, ya que el tratamiento con IECAs produce un aumento en los niveles de AngI (Epstein y cols., 2012). Sin embargo, nuestros resultados concuerdan con un estudio que analizó en el tejido renal los niveles de las diferentes moléculas que intervienen en el SRAA, donde se evidenció que los niveles intrarrenales de AngI y Ang (1-7) en ratas con DRA causado por isquemia-reperfusión (I/R), presentaban un ligero aumento con respecto al basal o bien con respecto a los valores preoperatorios, pero sin ser estadísticamente significativos. Igualmente, los animales con I/R tampoco presentaron cambios estadísticamente significativos en AngI y Ang (1-7) con respecto a las ratas SHAM (Allred y cols., 2000).

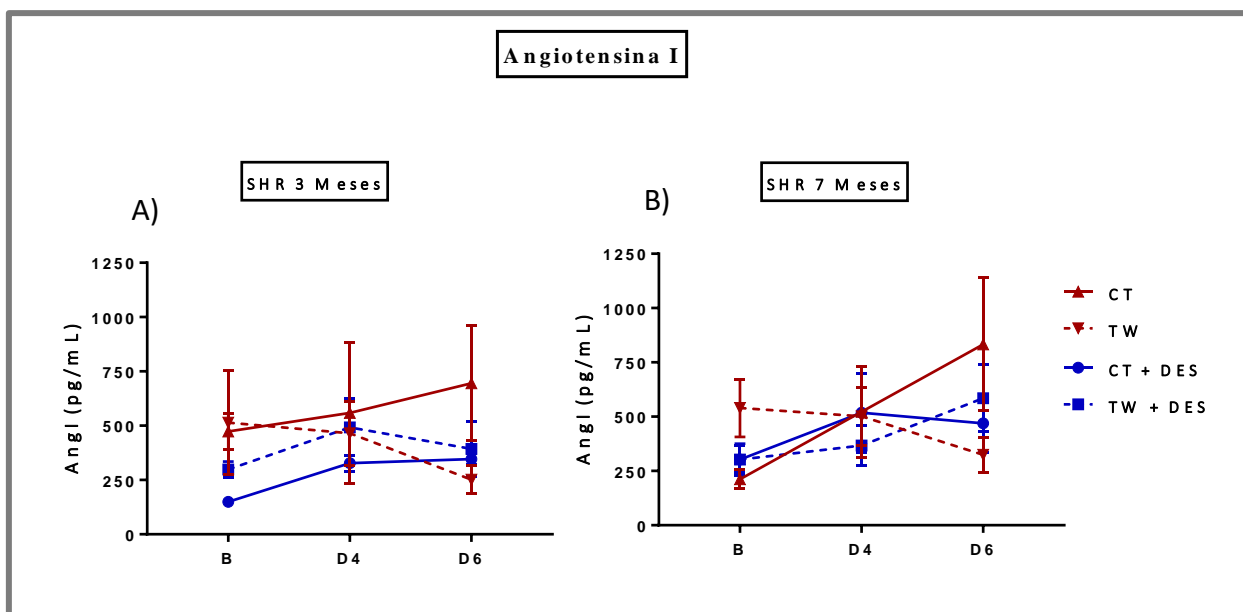


Figura 29. Niveles plasmáticos de Angiotensina I. A) Ratas SHR 3 meses, B) Ratas SHR 7 meses. Los datos representan la media \pm EEM. B: basal; CT: control; CT+DES: control + deshidratación; D4: día 4; D6: día 6; IB; ibuprofeno; SHR: ratas espontáneamente hipertensas; TW: Triple Whammy; TW+DES: Triple Whammy + deshidratación.

3.1.2 Angiotensina II

La AngII es la hormona más vasoactiva del SRAA, con una potente acción vasoconstrictora sistémica y local muy bien estudiada. En los últimos años se ha podido evidenciar su relación con el daño renal y vascular debido a que puede actuar como una citoquina, ya que favorece el reclutamiento de células inflamatorias (Alcázar y cols., 2003). Podemos observar en la figura 30 un aumento significativo de AngII en D6 en las ratas de 3 y 7 meses del grupo TW+DES con respecto a su basal y al mismo punto de estudio de su grupo CT+DES. Además, en las ratas de 7 meses del grupo TW también se observa un aumento estadísticamente significativo en los valores de esta hormona. Por otro lado, las ratas de 7 meses parten de valores basales de AngII más elevados que las ratas de 3 meses, este aumento se mantiene durante todo el estudio, casi duplicándose en el D6. Por lo cual, la diferencia de edad entre las ratas de 3 y 7 meses puede estar influyendo en los niveles de AngII. Igualmente, el grado de hidratación puede estar relacionado con los niveles elevados de AngII, pues las ratas de 3 y 7 meses del grupo TW+DES presentan mayor aumento de esta hormona con respecto a las del grupo TW, ya que la deshidratación puede causar una disminución en la volemia que repercute en la regulación hemodinámica y a su vez favorece la activación del SRAA y, por ende, puede producir una elevación de la AngII. Esta

elevación desencadenaría la cascada inflamatoria al estimular el receptor AT1 y potenciar el daño renal, pues según lo observado, el grupo *TW+DES* es el que ha desarrollado un DRA en nuestro modelo.

La AngII aumenta en el D6 a pesar del uso de trandolapril que bloquea la ECA impidiendo su formación. Sin embargo, cuando se usan los IECAs de forma crónica se produce una doble activación en la producción de AngII: por la disminución de su degradación y por el aumento de la producción intraglomerular debido al aumento de la expresión de la ECA, que lleva a más producción de AngII (Soler y cols., 2008). Por otro lado, otros estudios evidencian que el uso del trandolapril no disminuye los niveles de AngII y que el enalapril los aumenta después de usarlo durante 4 semanas en ratas SHR (Nagano y cols., 1991). El aumento de la AngII que observamos en nuestro modelo de DRA puede explicarse porque aun cuando existe un bloqueo del SRAA, la producción de AngII puede aumentar a través de vías alternativas independientes de la ECA (Lorenz, 2010). Algunos estudios consideran que, en vez de bloquear el efecto de la AngII para contrarrestar la hiperactividad, se debería potenciar la formación de Ang (1-7) que favorece la vasodilatación. Así mismo, el uso combinando de IECAs puede ser una nueva forma de reducir los efectos indeseables de la hiperactividad del SRAA en el DRA (Ba Aqeel y cols., 2017).

La AngII también se ha estudiado en modelos de DRA y se ha observado que en el DRA por I/R, las ratas con isquemia renal presentan un aumento significativo de la AngII intrarrenal (Allred y cols., 2000). Otro estudio también señala que la AngII puede sufrir modificaciones durante un DRA, sobre todo aumentando a nivel intrarrenal (Sharma y cols., 2019). De igual modo, en el DRA por I/R el aumento de la AngII y su actividad vasoconstrictora estimula la producción de peróxido de hidrógeno en el endotelio lo que puede disminuir la vasodilatación y la disponibilidad de ON, así mismo se ha comprobado que existe un aumento de la AngII durante la recuperación de los animales con DRA (Phillips y cols., 2010). Todo esto sugiere que la AngII también puede aumentar en procesos agudos y que está muy relacionada con el daño renal, ya que altas concentraciones de AngII en pacientes hospitalizados aumentan el riesgo de DRA en un 22 % y está estrechamente asociada con moléculas inflamatorias como IL-6 y TNFR-1 (Robinson-Cohen y cols., 2016).

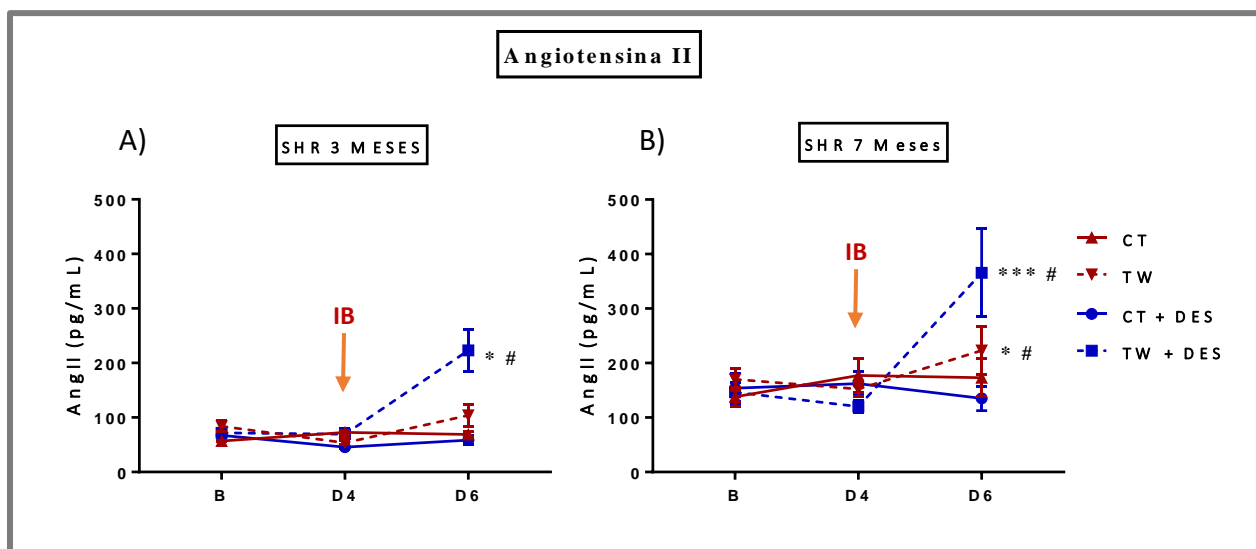


Figura 30. Niveles plasmáticos de Angiotensina II. A) Ratas SHR 3 meses B) Ratas SHR 7 meses. Los datos representan la media \pm EEM. * $p < 0,05$ y *** $p < 0,01$ respecto a la muestra basal del grupo, # $p < 0,05$ respecto al grupo control en el mismo día de tratamiento. B: basal; CT: control; CT+DES: control + deshidratación; D4: día 4; D6: día 6, IB: ibuprofeno; SHR: ratas espontáneamente hipertensas; TW: Triple Whammy; TW+DES: Triple Whammy + deshidratación.

Finalmente, los valores observados en nuestro modelo indican que existe un aumento en plasma de AngII a pesar del uso de un IECA por la hiperactivación del SRAA que presentan las ratas SHR (Antonaccio y Kerwin, 1980; Garst y cols., 1979; Haddad y Garcia, 1996; Hefti y cols., 1985), a su vez favorecida por la deshidratación, sin descartar que la triple terapia por si sola también pueda provocar alteraciones de esta enzima como se observa en el grupo de ratas TW de 7 meses.

3.1.3 Hormona antidiurética

La ADH favorece la reabsorción tubular de agua en el túbulo distal estimulado por los cambios osmóticos a este nivel. Así mismo pueden existir ciertas situaciones que promueven la acción de la ADH como: ansiedad, dolor, hipoxemia, hipercapnia, náuseas, vómitos, estados postoperatorios y algunos fármacos que pueden favorecer la aparición de oliguria (Schetz y Hoste, 2016).

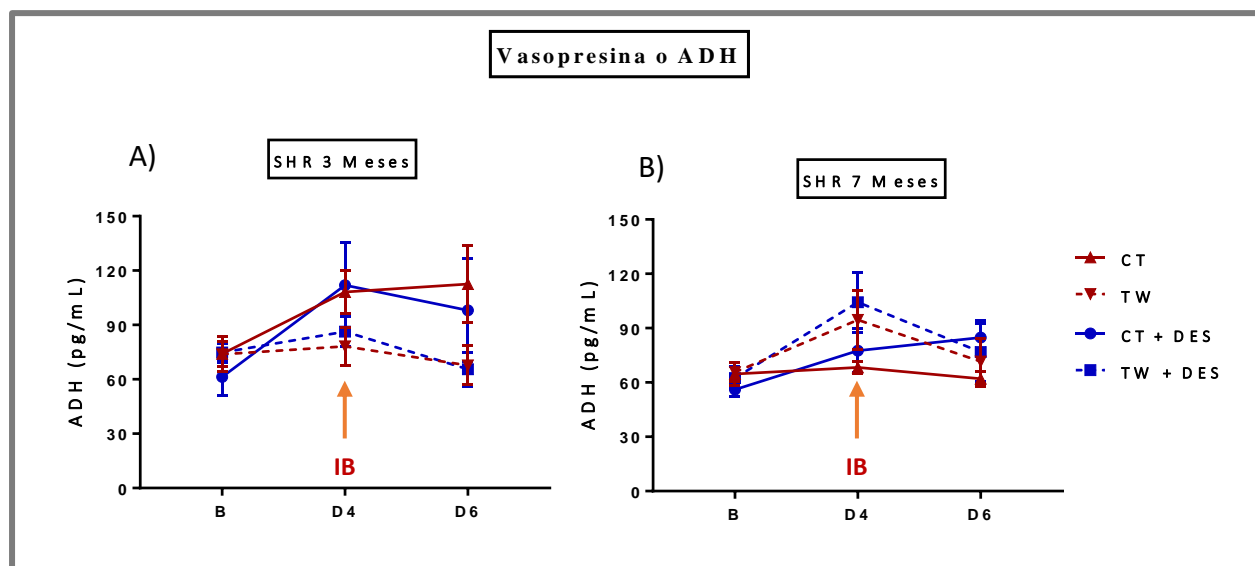


Figura 31. Niveles plasmáticos de la hormona antidiurética. A) Ratas SHR 3 meses B) Ratas SHR 7 meses. Los datos representan la media \pm EEM. ADH: hormona antidiurética; B: basal; CT: control; CT+DES: control + deshidratación; D4: día 4; D6: día 6; SHR: ratas espontáneamente hipertensas; TW: Triple Whammy; TW+DES: Triple Whammy + deshidratación.

En la figura 31 observamos que no hay cambios significativos de los niveles de esta hormona en ninguno de los grupos de estudio. Por lo cual esta hormona no sufre modificaciones importantes incluso en los grupos con DRA. Podríamos esperar que la ADH estuviera aumentada (debido a la eliminación de agua que provoca la furosemida) para favorecer la reabsorción de agua y contrarrestar la acción del fármaco; pero los resultados son muy dispares entre los diferentes grupos y no concluyentes con respecto a esta hormona. Sin embargo, algunos estudios sugieren que sería provechoso administrar ADH en el DRA provocada por sepsis, ya que esta puede llevar a cabo un efecto vasopresor y mejorar la perfusión glomerular, para tratar de mejorar la hemodinámica a nivel renal (Suarez y Busse, 2020). De igual forma no parece que la diferencia entre la edad de las ratas, así como la deshidratación produzcan algún efecto que altere los niveles de la hormona en nuestro modelo experimental.

3.1.4 Noradrenalina

La noradrenalina (NA) es un neurotransmisor del SNS, que pertenece a la familia de las catecolaminas, es liberada desde la terminación nerviosa y participa en la regulación de la función renal. Dentro de sus acciones más importantes cabe resaltar la regulación del flujo sanguíneo renal, de la TFG y la liberación de renina. Si bien es cierto que el SNS interviene en la regulación renal, también está relacionado con la aparición y progresión del DRA y la ERC favoreciendo la

inflamación y la fibrogénesis. La NA puede favorecer el daño renal hasta progresar a un DRA y desencadenar cambios hemodinámicos a nivel renal (Nohy cols., 2020).

En la figura 32 podemos observar que las ratas de 3 meses del grupo CT+DES y TW+DES presentan un aumento significativo de NA en D4. Sin embargo, en las ratas de 7 meses el aumento en D4 solo se observa en el grupo TW+DES. Además, observamos que todas las ratas de 7 meses parten de valores basales de NA mucho más altos que las ratas de 3 meses, y también que los niveles de NA en D6 (cuando ocurre el DRA) vuelven a descender alcanzando niveles cercanos al basal. Ahora bien, en el caso de los animales tratados con la triple terapia, el aumento de la NA puede estar mediado por la disminución de la PA y por la deshidratación, ya que observamos un mayor aumento en los grupos con restricción del volumen de agua (DES), lo cual provocaría una estimulación del SNS favoreciendo su liberación para aumentar los niveles de PA por medio de la retención de Na⁺, puesto que se sabe que la NA favorece el aumento de la PA en ratas SHR (Gaudet y cols., 1996). A pesar de ello, en D6 observamos un descenso en los niveles de NA, que puede favorecer aún más el descenso en los niveles de PA y, por ende, alterar la red de regulación hemodinámica. Igualmente, si el SNS no logra mantener los niveles adecuados de PA debido a su efecto a corto plazo, se ponen en marcha factores más potentes que regulan la PA como el SRAA, que se puede justificar por el aumento de la AngII en D6 en los animales del grupo TW+DES que son los que sufren un DRA.

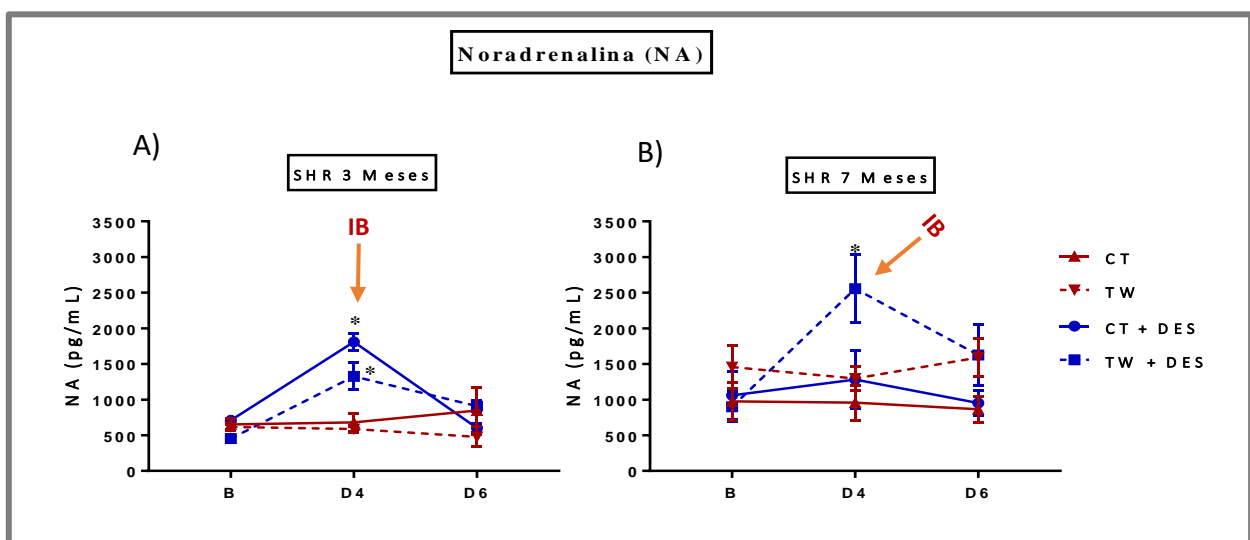


Figura 32. Niveles plasmáticos de noradrenalina. A) Ratas SHR 3 meses B) Ratas SHR 7 meses. Los datos representan la media \pm EEM. * $p < 0,05$ respecto a la muestra basal del grupo, # $p < 0,05$ respecto al grupo control en el mismo día de tratamiento. B: basal; CT: control; CT+DES: control + deshidratación; D4: día 4; D6: día 6; IB: ibuprofeno; SHR: ratas espontáneamente hipertensas; TW: Triple Whammy; TW+DES: Triple Whammy + deshidratación.

Finalmente, al igual que lo observado en los valores de AngII, la diferencia entre las edades de las ratas y el factor deshidratación parecen influir en los niveles de NA, favoreciendo un aumento mayor en las ratas SHR de 7 meses del grupo *TW+DES*. Sin embargo, un estudio determinó que la concentración de NA en plasma no era un buen indicador de la actividad simpática nerviosa y que no era apta para estudiar la liberación de NA presináptica en ratas SHR (Berg y cols., 2012). En cualquier caso, la concentración de NA en la sangre podría tener un valor en sí mismo, independientemente del nivel de activación del SNS, ya que es un potente vasoconstrictor, tiene efecto inotrópico y cronotrópico cardíaco, y favorece la liberación de renina y la retención de Na^+ .

Es necesario continuar con la búsqueda otros métodos que permitan estudiar y evaluar la participación del SNS en el modelo de DRA provocado por la triple terapia, debido a que el SNS es un elemento muy importante que está involucrado en el desarrollo del DRA, además el SNS es muy elástico y difuso, pudiendo haber actividad simpática general baja y alta actividad simpática renal, la cual puede favorecer el incremento del tono y la resistencia vascular agravando la reducción del flujo sanguíneo renal y disminuyendo la perfusión durante el DRA (Kaufmann y cols., 2015).

DISCUSIÓN GENERAL

DISCUSIÓN GENERAL

El DRA es una enfermedad que ha cobrado mucha importancia en los últimos años debido a su gravedad y al riesgo de complicaciones como la evolución a una ERC o la muerte. Por lo tanto, el desarrollo de este modelo animal que reproduce un DRA prerrenal inducido por el uso de la triple terapia, intenta replicar lo que se observa en la práctica clínica. Para llegar a este modelo experimental, se desarrollaron diferentes experimentos pilotos, se probaron distintas vías de administración de fármacos, y se realizaron diversos estudios de dosis/respuesta. Esto evidencia la complejidad de los factores implicados, SRAA, SN, entre otros, que inciden en la red de regulación hemodinámica sistémica y por ende en la función renal. Este modelo de DRA desarrollado en ratas hipertensas nos ha permitido estudiar cómo estos fármacos interactúan y afectan la regulación de diferentes parámetros utilizados en el diagnóstico del DRA. Además, hemos podido evaluar el efecto que pueden tener distintas comorbilidades como la edad y la deshidratación en las distintas variables, al permitirnos estudiar su relación con algunos de los biomarcadores utilizados en la caracterización del daño renal y con algunas moléculas que participan en la regulación hemodinámica.

Debido a la importancia que tiene el DRA en algunos grupos de edades, sobre todo en aquellos con diferentes problemas de salud, es importante conocer cómo se ven afectados los distintos puntos de la red de regulación hemodinámica con esta combinación de fármacos antihipertensivos y antiinflamatorios, de modo que se puedan desarrollar estrategias para prevenir la posibilidad de sufrir un DRA, ya que el uso de estos fármacos es muy elevado en la población española por la prescripción frecuente de estos y por la automedicación de los AINEs (Calvo y cols., 2020). Este estudio ha demostrado que estos fármacos en combinación pueden causar en las ratas un DRA prerrenal que en muchas ocasiones es grave, ya que en nuestro estudio tuvimos una mortalidad próxima al 25 % en el grupo *TW+DES*. Así mismo, pudimos comprobar como algunos factores pueden estar incidiendo en la aparición y gravedad del DRA, al observar que la HTA y el grado de hidratación de los animales son factores importantes para el desarrollo del DRA en nuestro modelo experimental. Esto se relaciona con lo que sucede en la clínica, donde los pacientes, llamados comúnmente pacientes frágiles, se caracterizan por tener una edad avanzada, sufrir de diferentes enfermedades o comorbilidades como la HTA, presentar cierto grado de deshidratación, pérdida de la reserva funcional renal, así como otros factores de riesgo tanto individuales como ambientales, además de usar determinados fármacos que pueden causar

interacciones con efectos negativos (Figura 33). Todo esto puede favorecer el desarrollo de una fragilidad hemodinámica que predispone la aparición de numerosos problemas de salud, incluyendo el riesgo de sufrir una enfermedad renal, como también alteraciones en la regulación de la PA, hipovolemia e IC entre otras, y que hace necesario abordar el problema bajo un nuevo concepto que permita estratificar el riesgo de estos pacientes. Una estrategia sería llevar a cabo una medicina más personalizada, que permita determinar mejor los factores que inciden en la aparición del DRA, sobre todo cuando son sometidos a este tipo de tratamientos tan habituales para el control de la HTA y el dolor (Docherty y cols., 2021; Hinson y cols., 2020).

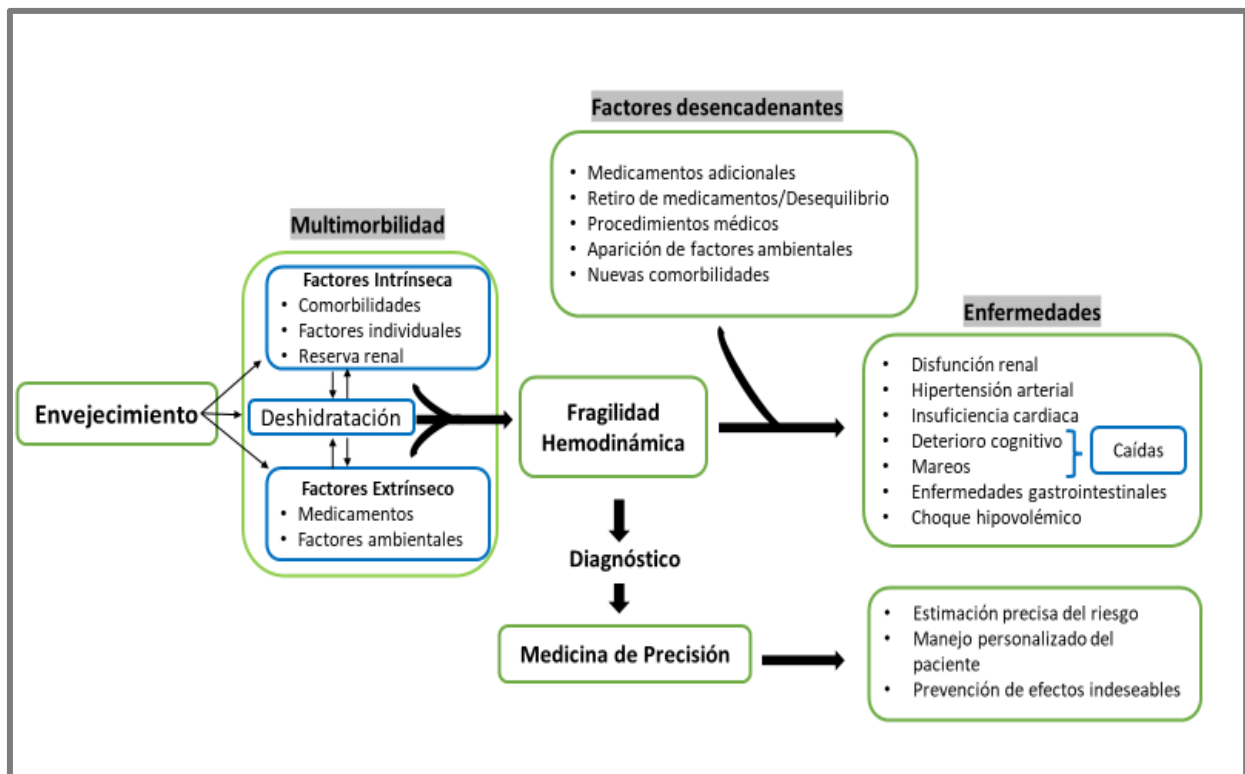


Figura 33. Esquema de la relación entre la deshidratación, las comorbilidades y la fragilidad hemodinámica en el anciano (Docherty y cols., 2021).

Es evidente que la PA sufre una disminución aguda e importante (Tabla 14) con el pretratamiento, que repercute en el estado hemodinámico de los animales pudiendo contribuir a la hipovolemia y, por tanto, traer asociado efectos deletéreos en todo el organismo, incluido el riñón. El uso de la furosemida y trandolapril en los primeros días de pretratamiento predispone a los animales, al afectar considerablemente los sistemas de regulación y provocar un desequilibrio en el estado hemodinámico desde las primeras dosis, lo que deja expuesto al riñón frente a los efectos aditivos que provoca el ibuprofeno, que favorecen el establecimiento del DRA (Farquhar y cols., 1999; Kafetz, 1992). Por otra parte, en pacientes se ha observado que el efecto de la combinación

del diurético con un IECA puede predisponer a la aparición de diferentes problemas de salud. Así mismo, el diurético por sí solo puede causar algunos cambios a nivel sistémico dentro de los cuales se pueden mencionar: hipocalcemia, hiponatremia, deshidratación, con lo cual puede aumentar el riesgo de DRA en los pacientes, con altas probabilidades de complicaciones y muerte (Ruedinger y cols., 2012).

La restricción de volumen de agua provoca un balance hídrico negativo que, sumado al efecto de los tres fármacos, se convierten en factores de riesgo estresantes para los animales de nuestro modelo experimental, como también ocurre en los pacientes con deshidratación y hemodinámicamente frágiles (Docherty y cols., 2021). Por otra parte, la AngII puede estar implicada en los procesos fisiopatológicos que dan lugar al DRA, y se relaciona con la progresión y gravedad del daño; pues estimula la liberación de moléculas proinflamatorias. La AngII se puede elevar aún en presencia de un IECA; esto habla a favor de que la hormona se produce por medio de vías alternativas, para evadir el bloqueo realizado por el trandolapril en la vía de síntesis clásica; con el fin de contrarrestar la hipoperfusión renal y la disminución de la PA. Esto parece concordar con lo observado en los valores de NA en D4 que aumentan significativamente en los animales con DRA, pero que como hemos dicho antes no está del todo dilucidado y es necesario seguir estudiando los efectos e implicaciones que puede tener el SNS en el establecimiento y evolución del DRA.

Así mismo, estos resultados pueden ayudarnos a realizar una aproximación diferente en el diagnóstico del DRA causado por la triple terapia, ya que se evidencia una relación entre el DRA y las diferentes comorbilidades existentes (HTA, edad y deshidratación) en nuestro modelo, como también sucede en los pacientes (Lind y cols., 2019). Esto convierte al DRA inducido por la triple terapia en un problema de salud complejo que involucra numerosos elementos, por lo que ya no sería un *Triple Whammy*, sino que podría decirse que se trata de un *cuádruple Whammy*. Nuestros resultados, junto a otros estudios existentes en pacientes (Camin y cols., 2015; Dreischulte y cols., 2015; Hinson y cols., 2020; Mangoni y cols., 2017; Ruedinger y cols., 2012; Shenfield y Lobo, 2004; Whiting y cols., 2017), nos llaman a replantear el uso de estas terapias combinadas de forma rutinaria sin calcular los efectos negativos que estas puedan ocasionar, siendo necesario monitorizar más de cerca su uso y hacer nuevas estrategias de prescripciones más ajustadas a las necesidades de los pacientes, evaluando los riesgos-beneficios de cada medicamento y tomando en cuenta los distintos grupos de pacientes a los que se pretende tratar.

Igualmente, los diferentes biomarcadores nos permiten caracterizar el DRA como prerrenal, debido a que algunos marcadores característicos de DRA intrínseco no están alterados

en nuestro modelo, como es el caso del NAG, EFNa y la excreción urinaria de proteínas, entre otros. Sin embargo, la elevación de algunos marcadores que se usan para la detección precoz del daño tubular, como NGAL y PAI-1, podrían estar indicando un daño incipiente de tipo intrínseco o renal, que si se deja evolucionar en el tiempo puede convertirse en un DRA intrínseco establecido con efectos muy negativos sobre las demás estructuras renales. NGAL parece estar muy relacionado con el grado de hidratación, ya que algunos estudios evidencian que este biomarcador aumenta en DRA asociado a deshidratación (Antonopoulos y cols., 2011; Çelik y cols., 2013); por lo cual, su determinación podría ser crucial en estos casos. PAI-1 podría jugar un papel preponderante, ya que se eleva en el D4, incluso antes de que aumente la CrP en D6, momento en que ocurre el DRA, y puede ayudar a tomar algún tipo de acción preventiva que permita reducir la exposición a algunos de los fármacos implicados, evitando la aparición del DRA.

Finalmente, los resultados obtenidos sirven de base para continuar estudiando el DRA prerrenal causado por la triple terapia (trandolapril, furosemida e ibuprofeno). Este acercamiento nos abre las puertas para realizar nuevos estudios que involucren otras comorbilidades que pudieran estar presentes en los pacientes y que influyan directamente en la patogénesis de este síndrome. De igual modo, es necesario valorar la posibilidad de analizar otros biomarcadores que pudieran estar involucrados en la fisiopatología del DRA y que resultarían de utilidad tanto para la caracterización como para el diagnóstico precoz. Los estudios de expresión génica serían importantes para estudiar PAI-1 y NGAL, lo cual nos brindaría más información sobre su origen y su participación en este modelo de DRA específicamente. Sin lugar a duda, es sumamente importante continuar el estudio de los diferentes componentes que inciden en la regulación de la PA, como son el SRAA y el SNS, para determinar su participación de forma más específica en el DRA y como su regulación (activación/inhibición) puede contribuir al manejo de este síndrome. Esto nos puede permitir desarrollar nuevas estrategias diagnósticas y terapéuticas mucho más personalizadas, que disminuyan el riesgo de DRA en este tipo de pacientes que, debido a sus enfermedades necesiten usar antihipertensivos como los IECAs, los ARAII y los diuréticos, junto con los AINEs para el tratamiento del dolor.

CONCLUSIONES

CONCLUSIONES

CONCLUSIÓN PRIMERA

En la rata hipertensa, el doble tratamiento antihipertensivo formado por el trandolapril y la furosemida predispone a sufrir un DRA cuando reciben el analgésico AINE ibuprofeno.

CONCLUSIÓN SEGUNDA

La deshidratación supone un factor de riesgo añadido muy importante, que aumenta significativamente el DRA producido por el *Triple Whammy*.

CONCLUSIÓN TERCERA

El DRA que desencadena el ibuprofeno en estas condiciones tiene, en términos generales, características de daño prerrenal. Sin embargo, el aumento del marcador urinario NGAL, pero no de otros marcadores, indica que probablemente se producen alteraciones sutiles y subclínicas del parénquima renal.

REFERENCIAS

REFERENCIAS

- Alcázar, R., Ruiz-Ortega, M., y Egido, J. (2003). Angiotensina II: péptido clave en el daño vascular y renal. *Nefrología*, 23, 27–35.
- Alhenc-Gelas, F., y Corvol, P. (2011). Molecular and Physiological Aspects of Angiotensin I Converting Enzyme. *Comprehensive Physiology*, 70303. <https://doi.org/10.1002/cphy.cp070303>
- Allred, A. J., Chappell, M. C., Ferrario, C. M., y Diz, D. I. (2000). Differential actions of renal ischemic injury on the intrarenal angiotensin system. *American Journal of Physiology-Renal Physiology*, 294(4), 636–645.
- Ali, B. H., Bashir, A. K., El Mugamer, I. T., y Tanira, M. O. M. (1996). Gentamicin nephrotoxicity in the rat: influence of age and diabetes mellitus. *Human & experimental toxicology*, 15(1), 51-55.
- Amin, A. A., Alabsawy, E. I., Jalan, R., y Davenport, A. (2019). Epidemiology, Pathophysiology, and Management of Hepatorenal Syndrome. *Seminars in Nephrology*, 39(1), 17–30. <https://doi.org/10.1016/j.semnephrol.2018.10.002>
- Andreucci, M., Faga, T., Pisani, A., Peticone, M., y Michael, A. (2017). The ischemic/nephrotoxic acute kidney injury and the use of renal biomarkers in clinical practice. *European Journal of Internal Medicine*, 39, 1–8. <https://doi.org/10.1016/j.ejim.2016.12.001>
- Anguiano, L., Riera, M., Pascual, J., y Soler, M. J. (2017). Circulating ACE2 in Cardiovascular and Kidney Diseases. *Current Medicinal Chemistry*, 24(30), 3231–3241. <https://doi.org/10.2174/0929867324666170414162841>
- Antonaccio, M. J., y Kerwin, L. (1980). Evidence for prejunctional inhibition of norepinephrine release by captopril in spontaneously hypertensive rats. *European Journal of Pharmacology*, 68(2), 209–212. [https://doi.org/10.1016/0014-2999\(80\)90325-8](https://doi.org/10.1016/0014-2999(80)90325-8)
- Antonopoulos, C. N., Kalkanis, A., Georgakopoulos, G., Sergentanis, T. N., y Rigopoulos, D. N. (2011). Neutrophil gelatinase-associated lipocalin in dehydrated

- patients: a preliminary report. *BMC Research Notes*, 4(1), 1–2. <https://doi.org/10.1186/1756-0500-4-435>
- Apausa Cuesta, C. (2019). Biomarcadores urinarios para la identificación de las secuelas subclínicas del daño renal agudo y de su recuperación. [Tesis doctoral, Universidad de Salamanca]
- Arumugam, S., Sreedhar, R., Thandavarayan, R. A., Karuppagounder, V., Krishnamurthy, P., Suzuki, K., Nakamura, M., y Watanabe, K. (2016). Angiotensin receptor blockers: Focus on cardiac and renal injury. *Trends in Cardiovascular Medicine*, 26(3), 221–228. <https://doi.org/10.1016/j.tcm.2015.06.004>
- Assersen, K., Sumners, C., y Steckelings, U. M. (2020). The renin-angiotensin system in hypertension, a constantly renewing classic: Focus on the angiotensin AT2-receptor. *Canadian Journal of Cardiology*, 36(5), 683–693. <https://doi.org/10.1016/j.cjca.2020.02.095>
- Avendaño, L. H. (2009). *Nefrología clínica*. Editorial Médica Panamericana.
- Ba Aqeel, S. H., Sanchez, A., y Batlle, D. (2017). Angiotensinogen as a biomarker of acute kidney injury. *Clinical Kidney Journal*, 10(6), 759–768.
- Balakumar, P., y Jagadeesh, G. (2014). A century old renin-angiotensin system still grows with endless possibilities: AT1 receptor signaling cascades in cardiovascular physiopathology. *Cellular Signalling*, 26(10), 2147–2160. <https://doi.org/10.1016/j.cellsig.2014.06.011>
- Balestracci, A., Ezquer, M., Elmo, M. E., Molini, A., Thorel, C., Torrents, M., y Toledo, I. (2015). Ibuprofen-associated acute kidney injury in dehydrated children with acute gastroenteritis. *Pediatric Nephrology*, 30(10), 1873–1878. <https://doi.org/10.1007/s00467-015-3105-7>
- Basu, R. K. (2020). Dynamic Biomarker Assessment: A Diagnostic Paradigm to Match the AKI Syndrome. *Frontiers in Pediatrics*, 7(530), 1–7. <https://doi.org/10.3389/fped.2019.00535>
- Bates, D. W., Su, L., Yu, D. T., Chertow, G. M., Seger, D. L., Gomes, D. R. J., Dasbach, E. J., y Platt, R. (2001). Mortality and costs of acute renal failure associated with amphotericin B therapy. *Clinical Infectious Diseases*, 32(5), 686–693. <https://doi.org/10.1086/319211>

- Bellomo, R., Kellum, J. A., y Ronco, C. (2012). Acute kidney injury. *The Lancet*, 380(9843), 756–766. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(11\)61454-2](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(11)61454-2)
- Berg, T., Walaas, S. I., Roberg, B. A., Huynh, T. T., y Jensen, J. (2012). Plasma norepinephrine in hypertensive rats reflects α 2-adrenoceptor release control only when re-uptake is inhibited. *Frontiers in Neurology*, 3(160), 1–7. <https://doi.org/10.3389/fneur.2012.00160>
- Bhagwan Dass, Beaver, T. M., Shimada, M., Alquadan, K. F., Koratala, A., Singhania, G., Singh, A., y Ejaz, A. A. (2019). Natriuretic peptides in acute kidney injury – A sojourn on parallel tracks? *European Journal of Internal Medicine*. 71, 39-44. <https://doi.org/10.1016/j.ejim.2019.11.025>
- Bhaskar, A., y Oommen, V. (2018). A simple model for demonstrating the factors affecting glomerular filtration rate. *Advances in Physiology Education*, 42(2), 380–382. <https://doi.org/10.1152/ADVAN.00195.2017>
- Bie, P. (2018). Mechanisms of sodium balance: Total body sodium, surrogate variables, and renal sodium excretion. *American Journal of Physiology - Regulatory Integrative and Comparative Physiology*, 315(5), R945–R962. <https://doi.org/10.1152/ajpregu.00363.2017>
- Bihorac, A., y Kellum, J. A. (2015). A step towards understanding mechanisms of renal repair Azra. *Nat Rev Nephrol*, 11(2), 75–74. <https://doi.org/10.1038/nrneph.2014.245>
- Bitker, L., y Burrell, L. M. (2019). Classic and Nonclassic Renin-Angiotensin Systems in the Critically Ill. *Critical Care Clinics*, 35(2), 213–227. <https://doi.org/10.1016/j.ccc.2018.11.002>
- Blanco-Gozalo, V. (2017). Caracterización etiopatogénica de diferentes modelos experimentales de daño renal agudo: biomarcadores, mecanismos fisiopatológicos y aplicaciones clínicas diagnósticas. [Tesis doctoral, Universidad de Salamanca]
- Blázquez-Medela, A. M., García-Sánchez, O., Blanco-Gozalo, V., Quiros, Y., Montero, M. J., Martínez-Salgado, C., López-Novoa J. M. y López-Hernández, F. J. (2014). Hypertension and hyperglycemia synergize to cause incipient renal tubular alterations resulting in increased NGAL urinary excretion in rats. *PLoS One*, 9(8), E105988.

- Block, C. A., y Schoolwerth, A. C. (2006). The epidemiology and outcome of acute renal failure and the impact on chronic kidney disease. *Seminars in Dialysis*, 19(6), 450–454. <https://doi.org/10.1111/j.1525-139X.2006.00206.x>
- Blowey, D. L. (2016). Diuretics in the treatment of hypertension. *Pediatric Nephrology*, 31(12), 2223–2233. <https://doi.org/10.1007/s00467-016-3334-4>
- Bolignano, D., Donato, V., Coppolino, G., Campo, S., Buemi, A., Lacquaniti, A., y Buemi, M. (2008). Neutrophil Gelatinase–Associated Lipocalin (NGAL) as a Marker of Kidney Damage. *American Journal of Kidney Diseases*, 52(3), 595–605. <https://doi.org/10.1053/j.ajkd.2008.01.020>
- Boron, W. F., y Boulpaep, E. L. (2017). *Fisiología Médica* (Tercera ed). Elsevier España.
- Bosomworth, M. P., Aparicio, S. R., y Hay, A. W. M. (1999). Nephrology Dialysis Transplantation Urine N-acetyl- b - D -glucosaminidase — A marker of tubular damage? *Nephrology Dialysis Transplantation*, 14, 620–626.
- Braam, B., Taler, S. J., Rahman, M., Fillaus, J. A., Greco, B. A., Forman, J. P., Reisin, E., Cohen, D. L., Saklayen, M. G., y Hedayati, S. S. (2017). Recognition and management of resistant hypertension. *Clinical Journal of the American Society of Nephrology*, 12(3), 524–535. <https://doi.org/10.2215/CJN.06180616>
- Bradford, M. M. (1976). A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry*, 72(1–2), 248–254.
- Burke, M., Pabbidi, M., Farley, J., y Roman, R. (2014). Molecular Mechanisms of Renal Blood Flow Autoregulation. *Current Vascular Pharmacology*, 12(6), 845–858. <https://doi.org/10.2174/15701611113116660149>
- Calvo, E. G., Álvarez, M. J. L., y Malo, S. (2020). Consumption of drugs used for the treatment of musculoskeletal pain in a cohort of manual workers in Zaragoza (Spain). *Revista de La Sociedad Española Del Dolor*, 27(3), 150–159. <https://doi.org/10.20986/resed.2020.3749/2019>
- Camin, R. M. G., Cols, M., Chevarria, J. L., Osuna, R. G., Carreras, M., Lisbona, J. M., y Coderch, J. (2015). Acute kidney injury secondary to a combination of renin-angiotensin system inhibitors, diuretics and NSAIDs: “The Triple Whammy.”

- Nefrologia: Publicacion Oficial de La Sociedad Espanola Nefrologia*, 35(2), 197–206. <https://doi.org/10.1016/j.nefro.2015.05.021>
- Cangiotti, A. M., Lorenzi, T., Zingaretti, M. C., Fabri, M., y Morroni, M. (2018). Polarized Ends of Human Macula Densa Cells: Ultrastructural Investigation and Morphofunctional Correlations. *Anatomical Record*, 301(5), 922–931. <https://doi.org/10.1002/ar.23759>
- Carles Albaladejo Blanco, Vicente, J. A. G., y Gisela Solsona Tomás. (2009). Insuficiencia renal transitoria por antagonistas del receptor de la angiotensina II: a propósito de 2 casos. *Atencion Primaria*, 41(7), 420–422.
- Castrop, H. (2015). A role for AT1 receptor-associated proteins in blood pressure regulation. *Current Opinion in Pharmacology*, 21, 43–47. <https://doi.org/10.1016/j.coph.2014.12.009>
- Cavagna, G. (2019). Fundamentals of Human Physiology. In *Springer*. Springer, Cham. <https://doi.org/10.1007/978-3-030-19404-8>
- Çelik, T., Altekin, E., İşgüder, R., Kenesari, Y., Duman, M., y Arslan, N. (2013). Evaluation of neutrophil gelatinase-associated lipocalin in pediatric patients with acute rotavirus gastroenteritis and dehydration. *Ital J Pediatr*, 39(52).
- Chalmers, C. (2019). Applied Anatomy and Physiology and the Renal Disease Process. In N. Thomas (Ed.), *Renal Nursing* (Fifth Edit, pp. 21–58). John Wiley y Sons. <https://doi.org/10.1002/9781119413172.ch2>
- Chan, R., y Michelis, M. F. (1998). Nephrologic complications of drug therapy in the elderly. *Geriatric Nephrology and Urology*, 8(1), 29–44. <https://doi.org/10.1023/A:1008203008239>
- Chapman, X. C. L., Johnson, X. B. D., Vargas, N. T., Hostler, D., Parker, M. D., y Schlader, X. Z. J. (2020). Both hyperthermia and dehydration during physical work in the heat contribute to the risk of acute kidney injury. *Journal of Applied Physiology*, 128(4), 715–728. <https://doi.org/10.1152/jappphysiol.00787.2019>
- Chertow, G. M., Burdick, E., Honour, M., Bonventre, J. V., y Bates, D. W. (2005). Acute kidney injury, mortality, length of stay, and costs in hospitalized patients. *Journal of the American Society of Nephrology*, 16(11), 3365–3370. <https://doi.org/10.1681/ASN.2004090740>

- Clavé, S., Rousset-Rouvière, C., Daniel, L., y Tsimaratos, M. (2019). The Invisible Threat of Non-steroidal Anti-inflammatory Drugs for Kidneys. *Frontiers in Pediatrics*, 7(520), 1–6. <https://doi.org/10.3389/fped.2019.00520>
- Collister, D., Pannu, N., Ye, F., James, M., Hemmelgarn, B., Chui, B., Manns, B., y Klarenbach, S. (2017). Health care costs associated with AKI. *Clinical Journal of the American Society of Nephrology*, 12(11), 1733–1743. <https://doi.org/10.2215/CJN.00950117>
- Commereuc, M., Rondeau, E., y Ridel, C. (2014). Insuffisance rénale aiguë chez la personne âgée: aspects diagnostiques et thérapeutiques. *Presse Medicale*, 43(4P1), 341–347. <https://doi.org/10.1016/j.lpm.2013.07.030>
- Dávila, A. G., y Zúñiga, J. M. (2016). La ciencia del animal de laboratorio y el procedimiento experimental (Vol. 2). *Editorial Universidad de Alcalá*.
- D'Elia, J. A., Bayliss, G., Gleason, R. E., y Weinrauch, L. A. (2016). Cardiovascular-renal complications and the possible role of plasminogen activator inhibitor: a review. *Clinical Kidney Journal*, 9(5), 705-712.
- de Kloet, A. D., Krause, E. G., y Woods, S. C. (2010). The renin angiotensin system and the metabolic syndrome. *Physiology and Behavior*, 100(5), 525–534. <https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2010.03.018>
- Delanghe, J. R., y Speeckaert, M. M. (2011). Creatinine determination according to Jaffe - What does it stand for? *NDT Plus*, 4(2), 83–86. <https://doi.org/10.1093/ndtplus/sfq211>
- D'Elia, J. A., y Weinrauch, L. A. (2013). The autonomic nervous system and renal physiology. *International Journal of Nephrology and Renovascular Disease*, 6, 149–160. <https://doi.org/10.2147/IJNRD.S40897>
- Díaz-González, F., y Sánchez-Madrid, F. (2015). NSAIDs: Learning new tricks from old drugs. *European Journal of Immunology*, 45(3), 679–686. <https://doi.org/10.1002/eji.201445222>
- Dibona, G. F. (2013). Sympathetic nervous system and hypertension. *Hypertension*, 61(3), 556–560. <https://doi.org/10.1161/HYPERTENSIONAHA.111.00633>
- Docherty, N. G., Delles, C., D'Haese, P., Layton, A. T., Martínez-Salgado, C., Vervaet, B. A., y López-Hernández, F. J. (2021). Haemodynamic frailty – A risk factor for

- acute kidney injury in the elderly. *Ageing Research Reviews*, 70. <https://doi.org/10.1016/j.arr.2021.101408>
- Doi, K., Katagiri, D., Negishi, K., Hasegawa, S., Hamasaki, Y., Fujita, T., Matsubara, T., Ishii, T., Yahagi, N., Sugaya, T., y Noiri, E. (2012). Mild elevation of urinary biomarkers in prerenal acute kidney injury. *Kidney International*, 82(10), 1114–1120. <https://doi.org/10.1038/ki.2012.266>
- Drawz, P., y Ghazi, L. (2017). Advances in understanding the renin-angiotensin-aldosterone system (RAAS) in blood pressure control and recent pivotal trials of RAAS blockade in heart failure and diabetic nephropathy. *F1000Research*, 6(0), 1–10. <https://doi.org/10.12688/f1000research.9692.1>
- Dreischulte, T., Morales, D. R., Bell, S., y Guthrie, B. (2015). Combined use of nonsteroidal anti-inflammatory drugs with diuretics and/or renin-angiotensin system inhibitors in the community increases the risk of acute kidney injury. *Kidney International*, 88(2), 396–403. <https://doi.org/10.1038/ki.2015.101>
- Eddy, A. A. (2002). Plasminogen activator inhibitor-1 and the kidney. *American Journal of Physiology-Renal Physiology*, 283(2), F209–F220.
- Edelstein, C. L. (2017). Biomarkers in acute kidney injury. In *Academic Press* (Second Ed, Vol. 24). Elsevier Inc. <https://doi.org/http://dx.doi.org/10.1016/B978-0-12-803014-1.00006-6>
- El-sharkawy, A. M., Devonald, M. A. J., Humes, D. J., Sahota, O., y Lobo, D. N. (2020). Hyperosmolar dehydration: A predictor of kidney injury and outcome in hospitalised older adults. *Clinical Nutrition*, 39(8), 2593–2599. <https://doi.org/10.1016/j.clnu.2019.11.030>
- El-sharkawy, A. M., Virdee, A., Wahab, A., Humes, D. J., Sahota, O., Devonald, M. A. J., y Lobo, D. N. (2017). Dehydration and clinical outcome in hospitalised older adults: A cohort study. *European Geriatric Medicine*, 8(1), 22–29. <https://doi.org/10.1016/j.eurger.2016.11.007>
- Emeigh Hart, S. G. (2005). Assessment of renal injury in vivo. *Journal of Pharmacological and Toxicological Methods*, 52(1), 30–45. <https://doi.org/10.1016/j.vascn.2005.04.006>

- Engvall, E., y Perlmann, P. (1971). Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) quantitative assay of immunoglobulin G. *Immunochemistry*, 8(9), 871–874. [https://doi.org/10.1016/0019-2791\(71\)90454-X](https://doi.org/10.1016/0019-2791(71)90454-X)
- Epstein, B. J., Leonard, P. T., y Shah, N. K. (2012). The evolving landscape of RAAS inhibition: From ACE inhibitors to ARBs, to DRIs and beyond. *Expert Review of Cardiovascular Therapy*, 10(6), 713–725. <https://doi.org/10.1586/erc.12.63>
- Evans, R. G., Majid, D. S. A., y Eppel, G. A. (2005). Neural, Hormonal and Renal Interactions in Long-Term Blood Pressure Control mechanisms mediating pressure natriuresis: what we know and what we need to find out. *Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology*, 32, 400–409.
- Fabiano, V., Carnovale, C., Gentili, M., Radice, S., Zuccotti, G. V., Clementi, E., Perrotta, C., y Mameli, C. (2016). Enalapril Associated with Furosemide Induced Acute Kidney Injury in an Infant with Heart Failure. A Case Report, a Revision of the Literature and a Pharmacovigilance Database Analysis. *Pharmacology*, 97(1–2), 38–42. <https://doi.org/10.1159/000441950>
- Farquhar, W. B., Morgan, A. L., Zambraski, E. J., y Kenney, W. L. (1999). Effects of acetaminophen and ibuprofen on renal function in the stressed kidney. *Journal of Applied Physiology*, 86(2), 598–604. <https://doi.org/10.1152/jap.1999.86.2.598>
- Farrar, A. (2018). Acute Kidney Injury. *Nursing Clinics of North America*, 53(4), 499–510. <https://doi.org/10.1016/j.cnur.2018.07.001>
- Faught, L. N., Greff, M. J. E., Rieder, M. J., y Koren, G. (2014). Drug-induced acute kidney injury in children. *British Journal of Clinical Pharmacology*, 80(4), 901–909. <https://doi.org/10.1111/bcp.12554>
- Field, M. J., Harris, D. C., y Pollock, C. A. (2010a). Acid – base balance and regulation of pH. *The Renal System*, 45–55). <https://doi.org/10.1016/b978-0-7020-3371-1.00002-6>
- Field, M. J., Harris, D. C., y Pollock, C. A. (2010b). Glomerular Filtration and Acute Kidney Injury. *The Renal System*, 57–67. <https://doi.org/10.1016/b978-0-7020-3371-1.00005-1>
- Field, M. J., Harris, D. C., y Pollock, C. A. (2010c). Urinary Tract Structure and Infection. *The Renal System*, 1–13. <https://doi.org/10.1016/b978-0-7020-3371-1.00001-4>

- Fischer, M. J., Brimhall, B. B., Lezotte, D. C., Glazner, J. E., y Parikh, C. R. (2005). Uncomplicated acute renal failure and hospital resource utilization: A retrospective multicenter analysis. *American Journal of Kidney Diseases*, 46(6), 1049–1057. <https://doi.org/10.1053/j.ajkd.2005.09.006>
- Flores, J., Armijo, J. A., y Mediavilla, Á. (2014). *Farmacología Humana* (6ta ed.). Elsevier España.
- Forni, L. G., Darmon, M., Ostermann, M., Oudemans-van Straaten, H. M., Pettilä, V., Prowle, J. R., Schetz, M., y Joannidis, M. (2017). Renal recovery after acute kidney injury. *Intensive Care Medicine*, 43(6), 855–866. <https://doi.org/10.1007/s00134-017-4809-x>
- Friis, U. G., Madsen, K., Stubbe, J., Hansen, P. B. L., Svenningsen, P., Bie, P., Skøtt, O., y Jensen, B. L. (2013). Regulation of renin secretion by renal juxtaglomerular cells. *Pflugers Archiv European Journal of Physiology*, 465(1), 25–37. <https://doi.org/10.1007/s00424-012-1126-7>
- Fu, W. J., Xiong, S. L., Fang, Y. G., Wen, S., Chen, M. L., Deng, R. T., Zheng L, Wang S.B., Pen L.F. y Wang, Q. (2011). Urinary tubular biomarkers in short-term type 2 diabetes mellitus patients: a cross-sectional study. *Endocrine*, 41(1), 82–88.
- Gaião, S. M., y De Carvalho Paiva, J. A. O. (2017). Biomarkers of renal recovery after acute kidney injury. *Revista Brasileira de Terapia Intensiva*, 29(3), 373–381. <https://doi.org/10.5935/0103-507X.20170051>
- Gallagher, S., Winston, S. E., Fuller, S. A., y Hurrell, J. G. R. (2008). Immunoblotting and immunodetection. *Current Protocols in Molecular Biology*, 83, 1–28. <https://doi.org/10.1002/0471142727.mb1008s83>
- Gambaro, G., y Perazella, M. A. (2003). Adverse renal effects of anti-inflammatory agents: Evaluation of selective and nonselective cyclooxygenase inhibitors. *Journal of Internal Medicine*, 253(6), 643–652. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2796.2003.01146.x>
- Garst, J. B., Koletsky, S., Wisenbaugh, P. E., Hadady, M., y Matthews, D. (1979). Arterial wall renin and renal venous renin in the hypertensive rat. *Clinical Science*, 56(1), 41–46. <https://doi.org/10.1042/cs0560041>

- Gaudet, E., Blanc, J., y Elghozi, J. L. (1996). Role of angiotensin II and catecholamines in blood pressure variability responses to stress in SHR. *American Journal of Physiology - Regulatory Integrative and Comparative Physiology*, 270(6), R1265–R1272. <https://doi.org/10.1152/ajpregu.1996.270.6.r1265>
- Gekle, M. (2017). Kidney and aging. A narrative review. *Experimental Gerontology*, 87, 153–155. <https://doi.org/10.1016/j.exger.2016.03.013>
- Geus, H. R. H. De, Betjes, M. G., y Bakker, J. (2012). In-Depth Clinical Review Biomarkers for the prediction of acute kidney injury: a narrative review on current status and future challenges. *Clinical Kidney Journal*, 5, 102–108. <https://doi.org/10.1093/ckj/sfs008>
- Ghosh, A. K., y Vaughan, D. E. (2012). PAI-1 in Tissue Fibrosis. *Journal of Cellular Physiology*, 227(2), 493–507. <https://doi.org/10.1002/jcp.22783>.PAI-1
- Ghosh, S. K., y Pandit, J. J. (2019). Neurological and humoral control of blood pressure. *Anaesthesia and Intensive Care Medicine*, 20(5), 301–305. <https://doi.org/10.1016/j.mpaic.2019.02.007>
- Giuseppe D'Amico y Claudio Bazzi. (2003). Pathophysiology of proteinuria. *Kidney International*, 63, 809–825. <https://doi.org/10.1046/j.1523-1755.2003.00840.x>
- Goeze, I., Wiesner, C., Schlitt, H. J., y Bergler, T. (2017). Renal recovery. *Best Practice & Research Clinical Anaesthesiology*, 31(3), 403-414.
- Gomelsky, A., Abreo, K., Khater, N., Abreo, A., Amin, B., Craig, M. K., Prabhakar, A., Cornett, E. M., Urman, R. D., y Kaye, A. D. (2020). Perioperative Acute Kidney Injury: Stratification and Risk Reduction. *Best Practice y Research Clinical Anaesthesiology*, 34 (2), 167-182. <https://doi.org/10.1016/j.bpa.2020.04.003>
- Grams, M. E., Sang, Y., Coresh, J., Ballew, S. H., Matsushita, K., Levey, A. S., Greene, T. H., Molnar, M. Z., Szabo, Z., Kalantar-Zadeh, K., y Kovesdy, C. P. (2016). Candidate surrogate end points for ESRD after AKI. *Journal of the American Society of Nephrology*, 27(9), 2851–2859. <https://doi.org/10.1681/ASN.2015070829>
- Granger, J. P., Alexander, B. T., y Llinas, M. (2002). Mechanisms of pressure natriuresis. *Current Hypertension Reports*, 4(2), 152–159. <https://doi.org/10.1007/s11906-002-0040-3>

- Grassi, G., Bombelli, M., Brambilla, G., Trevano, F. Q., Dell’Oro, R., y Mancia, G. (2012). Total, cardiovascular risk, blood pressure variability and adrenergic overdrive in hypertension: Evidence, mechanisms and clinical implications. *Current Hypertension Reports*, 14(4), 333–338. <https://doi.org/10.1007/s11906-012-0273-8>
- Guan, C., Li, C., Xu, L., Zhen, L., Zhang, Y., Zhao, L., Zhou, B., Che, L., Wang, Y., y Xu, Y. (2019). Risk factors of cardiac surgery-associated acute kidney injury: development and validation of a perioperative predictive nomogram. In *Journal of Nephrology*, 32(6), 937–945. <https://doi.org/10.1007/s40620-019-00624-z>
- Gupta, G., Dahiya, R., Singh, Y., Mishra, A., Verma, A., Gothwal, S. K., Aljabali, A. A., Dureja, H., Prasher, P., Negi, P., Kapoor, D. N., Goyal, R., Tambuwala, M. M., Chellappan, D. K., y Dua, K. (2020). Monotherapy of RAAS blockers and mobilization of aldosterone: A mechanistic perspective study in kidney disease. *Chemico-Biological Interactions*, 317. <https://doi.org/10.1016/j.cbi.2020.108975>
- Gupta, K. K., Donahue, D. L., Sandoval-Cooper, M. J., Castellino, F. J., y Ploplis, V. A. (2015). Abrogation of Plasminogen Activator Inhibitor-1-Vitronectin Interaction Ameliorates Acute Kidney Injury in Murine Endotoxemia. *PLoS One*, 10(3), e0120728. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0120728>
- Haase, M., Story, D. A., y Haase-Fielitz, A. (2011). Renal injury in the elderly: Diagnosis, biomarkers and prevention. *Best Practice and Research: Clinical Anaesthesiology*, 25(3), 401–412. <https://doi.org/10.1016/j.bpa.2011.06.004>
- Haddad, G., y Garcia, R. (1996). Characterization and hemodynamic implications of renal vascular angiotensin II receptors in SHR. *Journal of Molecular and Cellular Cardiology*, 28(2), 351–361. <https://doi.org/10.1006/jmcc.1996.0033>
- Hain, D., y Paixao, R. (2015). The perfect storm: Older adults and acute kidney injury. *Critical Care Nursing Quarterly*, 38(3), 271–279. <https://doi.org/10.1097/CNQ.0000000000000070>
- Hall, J. E. (2016). *Guyton y Hall. Tratado de fisiología médica* (13th ed.). Elsevier.
- Harris, R. C., McKanna, J. A., Akai, Y., Jacobson, H. R., Dubois, R. N., y Breyer, M. D. (1994). Cyclooxygenase-2 is associated with the macula densa of rat kidney and increases with salt restriction. *Journal of Clinical Investigation*, 94(6), 2504–2510. <https://doi.org/10.1172/JCI117620>

- Hattangady, N. G., Olala, L. O., Bollag, W. B., y Rainey, W. E. (2012). Acute and chronic regulation of aldosterone production. *Molecular and Cellular Endocrinology*, 350(2), 151–162. <https://doi.org/10.1016/j.mce.2011.07.034>
- Hefti, F., Fischli, W., y Gerald, M. (1985). Cilazapril prevents hypertension in spontaneously hypertensive rats. *Journal of Cardiovascular Pharmacology*, 8(3), 641–648.
- Hering, D., Lambert, E. A., Marusic, P., Walton, A. S., Krum, H., Lambert, G. W., Esler, M. D., y Schlaich, M. P. (2013). Substantial reduction in single sympathetic nerve firing after renal denervation in patients with resistant hypertension. *Hypertension*, 61(2), 457–464. <https://doi.org/10.1161/HYPERTENSIONAHA.111.00194>
- Hermida, R. C., Ayala, D. E., Fernández, J. R., Mojón, A., Smolensky, M. H., Fabbian, F., y Portaluppi, F. (2013). Administration-Time Differences in Effects of Hypertension Medications on Ambulatory Blood Pressure Regulation. In *Chronobiology International*, 30, 1–2. <https://doi.org/10.3109/07420528.2012.709448>
- Hinson, J. S., Ehmann, M. R., Al Jalbout, N., Ortmann, M. J., Zschoche, J., y Klein, E. Y. (2020). Risk of Acute Kidney Injury Associated With Medication Administration in the Emergency Department. *Journal of Emergency Medicine*, November, 1–10. <https://doi.org/10.1016/j.jemermed.2019.11.034>
- Horning, B., Kohler, C., y Drexler, H. (1997). Role of bradykinin in mediating vascular effects of angiotensin-converting enzyme inhibitors in humans. *Circulation*, 95(5), 1115–1118.
- Hoste, E. A. J., Kellum, J. A., Selby, N. M., Zarbock, A., Palevsky, P. M., Bagshaw, S. M., Goldstein, S. L., Cerdá, J., y Chawla, L. S. (2018). Global epidemiology and outcomes of acute kidney injury. *Nature Reviews Nephrology*, 14(10), 607–625. <https://doi.org/10.1038/s41581-018-0052-0>
- Huang, Y., Noble, N. A., Zhang, J., Xu, C., y Border, W. A. (2007). Renin-stimulated TGF- β 1 expression is regulated by a mitogen-activated protein kinase in mesangial cells. *Kidney International*, 72(1), 45–52.

- Husdan, H., y Rapoport, A. (1968). Estimation of creatinine by the Jaffe reaction. A comparison of three methods. *Clinical Chemistry*, 14(3), 222–238. <https://doi.org/10.1093/clinchem/14.3.222>
- Ichii, O., Nakamura, T., Irie, T., Otani, Y., Hosotani, M., Masum, M., ... y Kon, Y. (2020). Age-related glomerular lesions with albuminuria in male cotton rats. *Histochemistry and Cell Biology*, 153(1), 27–36.
- Ito, S., y Abe, K. (1996). Tubuloglomerular feedback. *Circulation Research*, 9(2), 153–163. <https://doi.org/10.1161/01.res.9.2.225>
- Izzo, J. L., Rajpal, M., Karan, S., Srikakrapudi, S., y Osmond, P. J. (2012). Hemodynamic and central blood pressure differences between carvedilol and valsartan added to lisinopril at rest and during exercise stress. *Journal of the American Society of Hypertension*, 6(2), 117–123. <https://doi.org/10.1016/j.jash.2011.12.001>
- Izzo, J. L., y Weir, M. R. (2011). Angiotensin-converting enzyme inhibitors. *Journal of Clinical Hypertension*, 13(9), 667–675. <https://doi.org/10.1111/j.1751-7176.2011.00508.x>
- Jéquier, E., y Constant, F. (2010). Water as an essential nutrient: The physiological basis of hydration. *European Journal of Clinical Nutrition*, 64(2), 115–123. <https://doi.org/10.1038/ejcn.2009.111>
- Jufar, A. H., Lankadeva, Y. R., May, C. N., Cochrane, A. D., Bellomo, R., y Evans, R. G. (2020). Renal functional reserve: From physiological phenomenon to clinical biomarker and beyond. *American Journal of Physiology Regulatory Integrative and Comparative Physiology*, 319 (6). <https://doi.org/10.1152/ajpregu.00237.2020>
- Jung, D., Biggs, H., Erikson, J., y Ledyard, P. U. (1975). New colorimetric reaction for end point, continuous flow, and kinetic measurement of urea. *Clinical Chemistry*, 21(8), 1136–1140. <https://doi.org/10.1093/clinchem/21.8.1136>
- Kafetz, K. (1992). Nonsteroidal anti-inflammatory drugs and renal function in elderly people. *Geriatric Nephrology and Urology*, 1(3), 213–217. <https://doi.org/10.1007/BF00636329>
- Kaufmann, J., Martinka, P., Moede, O., Sendeski, M., Steege, A., Fähling, M., ... y Patzak, A. (2015). Noradrenaline enhances angiotensin II responses via p38 MAPK

- activation after hypoxia/re-oxygenation in renal interlobar arteries. *Acta Physiologica*, 213(4), 920–932. <https://doi.org/10.1111/apha.12457>
- Kellum, J. A., y Hoste, E. A. J. (2008). Acute kidney injury: Epidemiology and assessment. *Scandinavian Journal of Clinical and Laboratory Investigation*, 68(241), 6–11. <https://doi.org/10.1080/00365510802144813>
- Khwaja, A. (2012). KDIGO clinical practice guidelines for acute kidney injury. *Nephron - Clinical Practice*, 120(4), 179–184. <https://doi.org/10.1159/000339789>
- Koch, C. A., y Fulop, T. (2017). Clinical aspects of changes in water and sodium homeostasis in the elderly. *Reviews in Endocrine and Metabolic Disorders*, 18(1), 49–66. <https://doi.org/10.1007/s11154-017-9420-5>
- Koeppen y Stanton. (2013). Structure and Function of the Kidneys (Fifth Edit, Vol. 1). *Renal Physiology*. Musby. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/B978-0-323-08691-2.00002-8>
- Koffi, I., Lacolley, P., Kirchengaast, M., Pomiès, J. P., Laurent, S., y Benetos, A. (1998). Prevention of arterial structural alterations with verapamil and trandolapril and consequences for mechanical properties in spontaneously hypertensive rats. *European Journal of Pharmacology*, 361(1), 51–60. [https://doi.org/10.1016/S0014-2999\(98\)00691-8](https://doi.org/10.1016/S0014-2999(98)00691-8)
- Komaru, Y., Inokuchi, R., Iwagami, M., Matsuura, R., Hamasaki, Y., Nangaku, M., y Doi, K. (2020). Correlation between the Incidence and Attributable Mortality Fraction of Acute Kidney Injury: A Systematic Review. *Blood Purification*, 8655, 1–8. <https://doi.org/10.1159/000505568>
- Kopitkó, C., Gondos, T., Fülöp, T., y Medve, L. (2020). Reinterpreting Renal Hemodynamics: The Importance of Venous Congestion and Effective Organ Perfusion in Acute Kidney Injury. *American Journal of the Medical Sciences*, 359(4), 193–205. <https://doi.org/10.1016/j.amjms.2020.01.012>
- Kurien, B. T., Everds, N. E., y Scofield, R. H. (2004). Experimental animal urine collection: a review. *Laboratory Animals*, 38(4), 333–361. <https://doi.org/10.1258/0023677041958945>

- Kutz, S. M., Hordines, J., Mckeown-longo, P. J., y Higgins, P. J. (2001). TGF- β 1-induced PAI-1 gene expression requires MEK activity and cell-to-substrate adhesion. *Journal of Cell Science*, 114(21), 3905–3914.
- Laemmli, U. K. (1970). Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature*, 227(5259), 680-685.
- Lameire, N., Biesen, W. Van, y Vanholder, R. (2005). Acute renal failure. *Lancet*, 365(9457), 417–430. [https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(05\)17831-3](https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S0140-6736(05)17831-3)
- Lameire, N., Nelde, A., Hoeben, H., y Vanholder, R. (1999). Acute renal failure in the elderly. *Geriatric Nephrology and Urology*, 9, 153–165. <https://doi.org/https://doi-org.ezproxy.usal.es/10.1023/A:1008322515136>
- Lapi, F., Azoulay, L., Yin, H., Nessim, S. J., y Suissa, S. (2013). Concurrent use of diuretics, angiotensin converting enzyme inhibitors, and angiotensin receptor blockers with non-steroidal anti-inflammatory drugs and risk of acute kidney injury: Nested case-control study. *BMJ*, 346(7890), 1–11. <https://doi.org/10.1136/bmj.e8525>
- Lemos, D. R., Marsh, G., Huang, A., Campanholle, G., Aburatani, T., Dang, L., Gomez, I., Fisher, K., Ligresti, G., Peti-Peterdi, J., y Duffield, J. S. (2016). Maintenance of vascular integrity by pericytes is essential for normal kidney function. *American Journal of Physiology-Renal Physiology*, 311(6), F1230–F1242. <https://doi.org/10.1152/ajprenal.00030.2016>
- Leon, S. J., y Tangri, N. (2019). The Use of Renin-Angiotensin System Inhibitors in Patients With Chronic Kidney Disease. *Canadian Journal of Cardiology*, 35(9), 1220–1227. <https://doi.org/10.1016/j.cjca.2019.06.029>
- Lin, H. J., Guo, X., y Rotter, J. I. (2019). The genetics of blood pressure regulation (Seventh Ed). *Emery and Rimoin's Principles and Practice of Medical Genetics and Genomics: Cardiovascular, Respiratory, and Gastrointestinal Disorders*. Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-812532-8.00006-9>
- Lind, K. E., Raban, M. Z., Georgiou, A., y Westbrook, J. I. (2019). NSAID use among residents in 68 residential aged care facilities 2014 to 2017_ An analysis of duration,

- concomitant medication use, and high-risk conditions. *Pharmacoepidemiology and Drug Safety*, 28(11), 1480–1488.
- Lipworth, L., Abdel-Kader, K., Morse, J., Stewart, T. G., Kabagambe, E. K., Parr, S. K., Birdwell, K. A., Matheny, M. E., Hung, A. M., Blot, W. J., Ikizler, T. A., y Siew, E. D. (2016). High prevalence of non-steroidal anti-inflammatory drug use among acute kidney injury survivors in the southern community cohort study. *BMC Nephrology*, 17(1), 1–9. <https://doi.org/10.1186/s12882-016-0411-7>
- Liu, C., Kraja, A. T., Jennifer A. Smith, Brody, J. A., Franceschini, N., Bis, J. C., Rice, K., Morrison, A. C., Lu, Y., Weiss, S., y Guo, X. (2016). Meta-analysis identifies common and rare variants influencing blood pressure and overlapping with metabolic trait loci A. *Nat Genet*, 48(10), 1162–1170. <https://doi.org/10.1038/ng.3660>.
- Liu, K., Zhou, L. Y., Li, D. Y., Cheng, W. J., Yin, W. J., Hu, C., ... y Zuo, X. C. (2019). A novel rat model of contrast-induced nephropathy based on dehydration. *Journal of Pharmacological Sciences*, 141(1), 49-55.
- Lob, H. E., Schultz, D., Marvar, P. J., Davisson, R. L., y Harrison, D. G. (2013). Role of the NADPH oxidases in the subfornical organ in angiotensin II-induced hypertension. *Hypertension*, 61(2), 382–387. <https://doi.org/10.1161/HYPERTENSIONAHA.111.00546>
- Lopes, J. A., y Jorge, S. (2013). The RIFLE and AKIN classifications for acute kidney injury: A critical and comprehensive review. *Clinical Kidney Journal*, 6(1), 8–14. <https://doi.org/10.1093/ckj/sfs160>
- López-Hernández, F. J., y López-Novoa, J. M. (2006). The lord of the ring: Mandatory role of the kidney in drug therapy of hypertension. *Pharmacology and Therapeutics*, 111(1), 53–80. <https://doi.org/10.1016/j.pharmthera.2005.08.002>
- López-Novoa, J. M., Martínez-Salgado, C., Rodríguez-Peña, A. B., y Hernández, F. J. L. (2010). Common pathophysiological mechanisms of chronic kidney disease: Therapeutic perspectives. *Pharmacology and Therapeutics*, 128(1), 61–81. <https://doi.org/10.1016/j.pharmthera.2010.05.006>
- Lorenz, J. N. (2010). *Chymase: ¿the other ACE?* F35–F36. <https://doi.org/10.1152/ajprenal.00641.2009>. Editorial

- Lucas, G. N. C., Leitão, A. C. C., Alencar, R. L., Xavier, R. M. F., Daher, E. D. F., y Silva Junior, G. B. da. (2019). Pathophysiological aspects of nephropathy caused by non-steroidal anti-inflammatory drugs. *Jornal Brasileiro de Nefrologia: 'orgao Oficial de Sociedades Brasileira e Latinoamericana de Nefrologia*, 41(1), 124–130. <https://doi.org/10.1590/2175-8239-JBN-2018-0107>
- Luft, F. C. (2020). Biomarkers and predicting acute kidney injury. *Acta Physiologica*. <https://doi.org/10.1111/apha.13479>
- Lydia, A., Rebecca, R. V., Sedono, R., y Mansjoer, A. (2019). Factors Associated with Mortality of Intensive Care Unit Patients with Acute Kidney Injury at Cipto Mangunkusumo National Central General Hospital. *Acta Medica Indonesiana*, 51(4), 324–330.
- Macefield, V. G., y Henderson, L. A. (2019). Identification of the human sympathetic connectome involved in blood pressure regulation. *NeuroImage*, 202. <https://doi.org/10.1016/j.neuroimage.2019.116119>
- Makris, K., y Spanou, L. (2016). Acute Kidney Injury: Definition, Pathophysiology and Clinical Phenotypes. *Clin Biochem*, 37(2), 85–98.
- Malhotra, R., y Siew, E. D. (2017). Biomarkers for the early detection and prognosis of acute kidney injury. In *Clinical Journal of the American Society of Nephrology*, 12(1), 149–173. <https://doi.org/10.2215/CJN.01300216>
- Mallamaci, F., Ruggenenti, P., Perna, A., Leonardis, D., Tripepi, R., Tripepi, G., Remuzzi, G., y Zoccali, C. (2011). ACE Inhibition Is Renoprotective among Obese Patients with Proteinuria. *Journal of the American Society of Nephrology*, 22, 1122–1128. <https://doi.org/10.1681/ASN.2010090969>
- Mancia, G., De Backer, G., Dominiczak, A., Cifkova, R., Fagard, R., Germano, G., Grassi, G., Heagerty, A. M., Kjeldsen, S. E., Laurent, S., Narkiewicz, K., Ruilope, L., Rynkiewicz, A., Schmieder, R. E., Struijker Boudier, H. A. J., y Zanchetti, A. (2007). *European Heart Journal*, 28(12), 1462–1536. <https://doi.org/10.1093/eurheartj/ehm236>
- Mancia, G., Fagard, R., Narkiewicz, K., Redón, J., Zanchetti, A., Böhm, M., Christiaens, T., Cifkova, R., De Backer, G., Dominiczak, A., Galderisi, M., Grobbee, D. E., Jaarsma, T., Kirchof, P., Kjeldsen, S. E., Laurent, S., Manolis, A. J., Nilsson, P. M.,

- Ruilope, L. M., Schmieder, R. E., Sirnes, P. A., Sleight, P., Viigimaa M., Waeber, B. y Zannad, F. (2013). 2013 Practice guidelines for the management of arterial hypertension of the European Society of Hypertension (ESH) and the European Society of Cardiology (ESC): ESH/ESC Task Force for the Management of Arterial Hypertension. *Journal of Hypertension*, 31(10), 1925–1938. <https://doi.org/10.1097/HJH.0b013e328364ca4c>
- Mangan, C., Stott, M. C., y Dhanda, R. (2018). Renal physiology: blood flow, glomerular filtration and plasma clearance. *Anaesthesia and Intensive Care Medicine*, 19(5), 254–257. <https://doi.org/10.1016/j.mpaic.2018.02.013>
- Mangoni, A. A., Kholmurodova, F., Mayner, L., Hakendorf, P., y Woodman, R. J. (2017). The Concomitant Use of Diuretics, Non-Steroidal Anti-Inflammatory Drugs, and Angiotensin-Converting Enzyme Inhibitors or Angiotensin Receptor Blockers (Triple Whammy), Extreme Heat, and In-Hospital Acute Kidney Injury in Older Medical Patients. *Advances in Therapy*, 34(11), 2534–2541. <https://doi.org/10.1007/s12325-017-0629-1>
- Mansfield, K. E., Nitsch, D., Smeeth, L., Bhaskaran, K., y Tomlinson, L. A. (2016). Prescription of renin-angiotensin system blockers and risk of acute kidney injury: A population-based cohort study. *BMJ Open*, 6(12), 1–9. <https://doi.org/10.1136/bmjopen-2016-012690>
- Marceau, F., Bachelard, H., Bouthillier, J., Fortin, J. P., Morissette, G., Bawolak, M. T., Charest-Morin, X., y Gera, L. (2020). Bradykinin receptors: Agonists, antagonists, expression, signaling, and adaptation to sustained stimulation. *International Immunopharmacology*, 82. <https://doi.org/10.1016/j.intimp.2020.106305>
- Martin, J., y Sheaff, M. (2007). Renal ageing. *Journal of Pathology*, 211, 198–205. <https://doi.org/10.1002/path>
- Marx, D., Metzger, J., Pejchinovski, M., Gil, R. B., Frantzi, M., Latosinska, A., Belczacka, I., Heinzmann, S. S., Husi, H., Zoidakis, J., Klingele, M., y Herget-Rosenthal, S. (2018). Proteomics and Metabolomics for AKI Diagnosis. *Seminars in Nephrology*, 38(1), 63–87. <https://doi.org/10.1016/j.semnephrol.2017.09.007>
- Marx, J. L. (1976). Hypertension: A complex disease with complex causes. *Science*, 194(4267), 821–825. <https://doi.org/10.1126/science.194.4267.821>

- Maxson, R. (2017). Medications in Kidney Disease. *Journal for Nurse Practitioners*, 13(10), 687-692.e3. <https://doi.org/10.1016/j.nurpra.2017.07.023>
- Meersch, M., Schmidt, C., Aken, H. Van, Martens, S., Rossaint, J., Singbartl, K., Gorlich, D., Kellum, J. A., y Zarbock, A. (2014). Urinary TIMP-2 and IGFBP7 as Early Biomarkers of Acute. *PLoS ONE*, 9(3). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0093460>
- Mehta, R. L., Kellum, J. A., Shah, S. V., Molitoris, B. A., Ronco, C., Warnock, D. G., Levin, A., Bagga, A., Bakkaloglu, A., Bonventre, J. V., Burdmann, E. A., Chen, Y., Devarajan, P., D'Intini, V., Dobb, G., Durbin, C. G., Eckardt, K. U., Guerin, C., Herget-Rosenthal, S. y Webb, S. (2007). Acute kidney injury network: Report of an initiative to improve outcomes in acute kidney injury. *Critical Care*, 11(2), 1–8. <https://doi.org/10.1186/cc5713>
- Melo, F. D. A. F., Macedo, E., Bezerra, A. C. F., De Melo, W. A. L., Mehta, R. L., Burdmann, E. D. A., y Zanetta, D. M. T. (2020). A systematic review and meta-analysis of acute kidney injury in the intensive care units of developed and developing countries. *PLoS ONE*, 15(1), 1–26. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0226325>
- Meola, M., Samoni, S., Petrucci, I., y Ronco, C. (2016). Clinical Scenarios in Acute Kidney Injury: Postrenal Acute Kidney Injury. *Contributions to Nephrology*, 188, 64–68. <https://doi.org/10.1159/000445468>
- Mérida, E., y Praga, M. (2019). NSAIDs and nephrotic syndrome. *Clinical Journal of the American Society of Nephrology*, 14(9), 1280–1282. <https://doi.org/10.2215/CJN.08090719>
- Messerli, F. H., Bangalore, S., Bavishi, C., y Rimoldi, S. F. (2018). Angiotensin-Converting Enzyme Inhibitors in Hypertension: ¿To Use or Not to Use? *Journal of the American College of Cardiology*, 71(13), 1474–1482. <https://doi.org/10.1016/j.jacc.2018.01.058>
- Michel, M. C., Foster, C., Brunner, H. R., y Liu, L. (2013). A systematic comparison of the properties of clinically used angiotensin II type 1 receptor antagonists. *Pharmacological Reviews*, 65(2), 809–848. <https://doi.org/10.1124/pr.112.007278>

- Miller, H. J. (2015). Dehydration in the Older Adult. *Journal of Gerontological Nursing*, 41(9), 8–13. <https://doi.org/10.3928/00989134-20150814-02>
- Mirabito Colafella, K. M., Bovée, D. M., y Danser, A. H. J. (2019). The renin-angiotensin-aldosterone system and its therapeutic targets. *Experimental Eye Research*, 186. <https://doi.org/10.1016/j.exer.2019.05.020>
- Møller, S., Jacobsen, J. C. B., Thomas H. Braunstein, N.-H., y Holstein-Rathlou, C. M. S. (2018). The influence of connexin 45 on renal autoregulation. *The FASEB Journal*, 32(S1), 13.
- Monedero, P., García-Fernández, N., Pérez-Valdivieso, J. R., Vives, M., y Lavilla, J. (2011). Insuficiencia Renal aguda. Acute kidney injury. *Revista Española de Anestesiología y Reanimación*, 58(6), 365–374. [https://doi.org/10.1016/s0034-9356\(11\)70086-x](https://doi.org/10.1016/s0034-9356(11)70086-x)
- Moore, P. K., Hsu, R. K., y Liu, K. D. (2018). Management of Acute Kidney Injury: Core Curriculum 2018. *American Journal of Kidney Diseases*, 72(1), 136–148. <https://doi.org/10.1053/j.ajkd.2017.11.021>
- Moore, Pollack, C., y Butkerait, P. (2015). Adverse drug reactions and drug–drug interactions with over-the-counter NSAIDs. *Therapeutics and Clinical Risk Management*, 11, 1061–1075. <https://doi.org/10.2147/TCRM.S79135>
- Mori, K., y Nakao, K. (2007). Neutrophil gelatinase-associated lipocalin as the real-time indicator of active kidney damage. *Kidney International*, 71(10), 967–970. <https://doi.org/10.1038/sj.ki.5002165>
- Murray, I., y Paolini, M. A. (2020). Histology, Kidney and Glomerulus. *StatPearls Publishing*.
- Nadkarni, G. N., Coca, S. G., Meisner, A., Patel, S., Kerr, K. F., Patel, U. D., Koyner, J. L., Garg, A. X., Philbrook, H. T., Edelstein, C. L., Shlipak, M., y El-khoury, J. (2017). Urinalysis findings and urinary kidney injury biomarker concentrations. *BMC Nephrology*, 18, 218. <https://doi.org/10.1186/s12882-017-0629-z>
- Nagano, M., Higaki, J., Mikami, H., Nakamaru, M., Higashimori, K., Katahira, K., ... y Ogihara, T. (1991). Converting enzyme inhibitors regressed cardiac hypertrophy and reduced tissue angiotensin II in spontaneously hypertensive rats. *Journal of Hypertension*, 9(7), 595–599.

- Nickolas, T. L., Rourke, M. J. O., Yang, J., Sise, M. E., Canetta, P. A., Barasch, N., Buchen, C., Khan, F., Mori, K., Giglio, J., Devarajan, P., y Barasch, J. (2008). Sensitivity and Specificity of a Single Emergency Department Measurement of Urinary Neutrophil Gelatinase – Associated Lipocalin for Diagnosing Acute Kidney Injury. *Annals of Internal Medicine*, 148(11), 810–819.
- Nilsson, P. M. (2017). Blood pressure strategies and goals in elderly patients with hypertension. *Experimental Gerontology*, 87, 151–152. <https://doi.org/10.1016/j.exger.2016.04.018>
- Noh, M. R., Jang, H. S., Kim, J., y Padanilam, B. J. (2020). Renal sympathetic nerve-derived signaling in acute and chronic kidney diseases. *International Journal of Molecular Sciences*, 21(5), 1647.
- Ogobuiro, I., y Tuma, F. (2020). Physiology, Renal. *StatPearls*.
- Oliveros, E., Patel, H., Kyung, S., Fugar, S., Goldberg, A., Madan, N., y Williams, K. A. (2020). Hypertension in older adults: Assessment, management, and challenges. *Clinical Cardiology*, 43(2), 99–107. <https://doi.org/10.1002/clc.23303>
- Osborn, J. L., Kopp, U. C., Thames, M. D., y DiBona, G. F. (1984). Interactions among renal nerves, prostaglandins, and renal arterial pressure in the regulation of renin release. *American Journal of Physiology - Renal Fluid and Electrolyte Physiology*, 16(5). <https://doi.org/10.1152/ajprenal.1984.247.5.f706>
- Ostuni, M., y Musso, C. G. (2019). Acute kidney injury in the aged. *Encyclopedia of Biomedical Gerontology: Elsevier Inc.* <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-801238-3.11278-4>
- Pai, A. B. (2015). Keeping kidneys safe: The pharmacist's role in NSAID avoidance in high-risk patients. *Journal of the American Pharmacists Association*, 55(1), e15–e25. <https://doi.org/10.1331/JAPhA.2015.15506>
- Paniagua-Sancho, M., Quiros, Y., Casanova, A. G., Blanco-Goza, V., Agüeros-Blanco, C., Benito-Hernández, A., Ramos-Barron, M. A., Gómez-Alamillo, C., Arias, M., Sancho-Martínez, S. M., y López-Hernández, F. J. (2021). Urinary Plasminogen Activator Inhibitor-1: A Biomarker of Acute Tubular Injury. *American Journal of Nephrology*, 1–11. <https://doi.org/10.1159/000518455>

- Parati, G., y Esler, M. (2012). The human sympathetic nervous system: Its relevance in hypertension and heart failure. *European Heart Journal*, 33(9), 1058–1066. <https://doi.org/10.1093/eurheartj/ehs041>
- Paulis, S. J. C., Everink, I. H. J., Halfens, R. J. G., Lohrmann, C., Wirnsberger, R. R., Gordon, A. L., y Schols, J. M. G. A. (2020). Diagnosing dehydration in the nursing home: international consensus based on a modified Delphi study. *European Geriatric Medicine*, 11, 393- 402. <https://doi.org/10.1007/s41999-020-00304-3>
- Peng, F., Su, J., Lin, J., y Niu, W. (2015). Impact of renin-angiotensin-aldosterone system-blocking agents on the risk of contrast-induced acute kidney injury: A prospective study and meta-analysis. *Journal of Cardiovascular Pharmacology*, 65(3), 262–268. <https://doi.org/10.1097/FJC.000000000000189>
- Peregrín, C. M., López, R. O., García-Montemayor, V., de Mier, V. P. R., y Cabrera, S. S. (2019). Acute renal failure (I). *Medicine (Spain)*, 12(79), 4662–4671. <https://doi.org/10.1016/j.med.2019.05.020>
- Pfeffer, J. M., Pfeffer, M. A., y Frohlich, E. D. (1971). Validity of an indirect tail-cuff method for determining systolic arterial pressure in unanesthetized normotensive and spontaneously hypertensive rats. *Translational Research*, 78(6), 957–962.
- Phillips, S. A., Pechman, K. R., Leonard, E. C., Friedrich, J. L., Bian, J. T., Beal, A. G., y Basile, D. P. (2010). Increased ANG II sensitivity following recovery from acute kidney injury: role of oxidant stress in skeletal muscle resistance arteries. *American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*, 298(6), 1682–1691. <https://doi.org/10.1152/ajpregu.00448.2009>.
- Pinheiro, S. V. B., Ferreira, A. J., Kitten, G. T., Da Silveira, K. D., Da Silva, D. A., Santos, S. H. S., Gava, E., Castro, C. H., Magalhes, J. A., Da Mota, R. K., Botelho-Santos, G. A., Bader, M., Alenina, N., Santos, R. A. S., y Simoes E Silva, A. C. (2009). Genetic deletion of the angiotensin-(1-7) receptor Mas leads to glomerular hyperfiltration and microalbuminuria. *Kidney International*, 75(11), 1184–1193. <https://doi.org/10.1038/ki.2009.61>
- Pireto Setién, J. M. (2007). Antiinflamatorios No Esteroides (AINEs). ¿Dónde estamos y hacia dónde nos dirigimos? *Cient Dent*, 43(2), 203–212.

- Prieto-García, L., Pericacho, M., Sancho-Martínez, S. M., Sánchez, Á., Martínez-Salgado, C., López-Novoa, J. M., y López-Hernández, F. J. (2016). Mechanisms of triple whammy acute kidney injury. *Pharmacology and Therapeutics*, 167, 132–145. <https://doi.org/10.1016/j.pharmthera.2016.07.011>
- Quiros, Y., Ferreira, L., Sancho-Martínez, S. M., González-Buitrago, J. M., López-Novoa, J. M., y López-Hernández, F. J. (2010). Sub-nephrotoxic doses of gentamicin predispose animals to developing acute kidney injury and to excrete ganglioside M2 activator protein. *Kidney International*, 78(10), 1006–1015. <https://doi.org/10.1038/ki.2010.267>
- Radi, Z. A. (2018). Immunopathogenesis of Acute Kidney Injury. *Toxicologic Pathology*, 46(8), 930–943. <https://doi.org/10.1177/0192623318799976>
- Rainsford, K. D. (2009). Ibuprofen: Pharmacology, efficacy and safety. *Inflammopharmacology*, 17(6), 275–342. <https://doi.org/10.1007/s10787-009-0016-x>
- Regeniter, A., Freidank, H., Dickenmann, M., Boesken, W. H., y Siede, W. H. (2009). Evaluation of proteinuria and GFR to diagnose and classify kidney disease: Systematic review and proof of concept. *European Journal of Internal Medicine*, 20(6), 556–561. <https://doi.org/10.1016/j.ejim.2009.03.006>
- Ren, Y., Garvin, J. L., Liu, R., y Carretero, O. A. (2007). Possible mechanism of efferent arteriole (Ef-Art) tubuloglomerular feedback. *Kidney International*, 71(9), 861–866. <https://doi.org/10.1038/sj.ki.5002161>
- Ren, Y., Garvin, J. L., Liu, R., y Carretero, Os. A. (2009). Cross-talk between arterioles and tubules in the kidney. *Pediatr Nephrol*, 24(1), 31–35. <https://doi.org/doi:10.1007/s00467-008-0852-8>.
- Ren, Y. L., Carretero, O. A., y Garvin, J. L. (2002). Role of mesangial cells and gap junctions in tubuloglomerular feedback. *Kidney International*, 62(2), 525–531. <https://doi.org/10.1046/j.1523-1755.2002.00454.x>
- Ricci, Z., Cruz, D., y Ronco, C. (2008). The RIFLE criteria and mortality in acute kidney injury: A systematic review. *Kidney International*, 73(5), 538–546. <https://doi.org/10.1038/sj.ki.5002743>

- Rivera, C. C., Hernández, R. G., y Marin, H. S. (2013). Manejo reproductivo de las colonias de Rata Espontáneamente Hipertensa (SHR) y su control Normotenso Wistar Kyoto (WKY) en el bioterio del Instituto de Fisiología Celular de la Universidad Nacional Autónoma de México. *Revista Electronica de Veterinaria*, 14(11B).
- Rizvi, M. S., y Kashani, K. B. (2017). Biomarkers for early detection of acute kidney injury. *The Journal of Applied Laboratory Medicine*, 2(3), 386–399. <https://doi.org/10.1373/jalm.2017.023325>
- Robinson-Cohen, C., Katz, R., Price, B. L., Harju-Baker, S., Mikacenic, C., Himmelfarb, J., ... y Wurfel, M. M. (2016). Association of markers of endothelial dysregulation Ang1 and Ang2 with acute kidney injury in critically ill patients. *Critical Care*, 20(1), 1–8.
- Rodrigo, G. C., y Herbert, K. E. (2018). Regulation of vascular function and blood pressure by circadian variation in redox signalling. *Free Radical Biology and Medicine*, 119, 115–120. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2017.10.381>
- Romero, C. A., y Carretero, O. A. (2019a). A Novel Mechanism of Renal Microcirculation Regulation: Connecting Tubule-Glomerular Feedback. *Current Hypertension Reports*, 21(8), 1–8. <https://doi.org/10.1007/s11906-019-0911-5>
- Romero, C. A., y Carretero, O. A. (2019b). Tubule-vascular feedback in renal autoregulation. *American Journal of Physiology - Renal Physiology*, 316(6), F1218–F1226. <https://doi.org/10.1152/ajprenal.00381.2018>
- Ronco, C., Kellum, J. A., y Haase, M. (2012). Subclinical AKI is still AKI. *Critical Care*, 16(313), 1–4. <https://doi.org/https://doi-org.ezproxy.usal.es/10.1186/cc11240>
- Rosendorff, C., Lackland, D. T., Allison, M., Aronow, W. S., Black, H. R., Blumenthal, R. S., Cannon, C. P., Lemos, J. A. de, Elliott, W. J., Findeiss, L., Gersh, B. J., Gore, J. M., Levy, D., Long, J. B., O'Connor, C. M., O'Gara, P. T., Ogedegbe, O., Oparil, S., y White, W. B. (2015). Treatment of hypertension in patients with coronary artery disease. *Journal Of the American Society of Hypertension*, 1–46. <https://doi.org/10.1016/j.jash.2015.03.002>

- Rossier, B. C., Bochud, M., y Devuyst, O. (2017). The hypertension pandemic: An evolutionary perspective. *Physiology*, 32(2), 112–125. <https://doi.org/10.1152/physiol.00026.2016>
- Roush, G. C., Kaur, R., y Ernst, M. E. (2014). Diuretics: A review and update. *Journal of Cardiovascular Pharmacology and Therapeutics*, 19(1), 5–13. <https://doi.org/10.1177/1074248413497257>
- Roy, A., Al-Bataineh, M. M., y Pastor-Soler, N. M. (2015). Collecting duct intercalated cell function and regulation. *Clinical Journal of the American Society of Nephrology*, 10(2), 305–324. <https://doi.org/10.2215/CJN.08880914>
- Ruedinger, J. M., Nickel, C. H., Maile, S., Bodmer, M., Kressig, R. W., y Bingisser, R. (2012). Diuretic use, RAAS blockade and morbidity in elderly patients presenting to the emergency department with non-specific complaints. *Swiss Medical Weekly*, 14, 1–9. <https://doi.org/10.4414/smw.2012.13568>
- Saikumar, P., y Venkatachalam, M. A. (2003). Role of Apoptosis in Hypoxic/Ischemic Damage in the Kidney. *Seminars in Nephrology*, 23(6), 511–521. [https://doi.org/10.1053/S0270-9295\(03\)00130-X](https://doi.org/10.1053/S0270-9295(03)00130-X)
- Salas, S. P., Giacaman, A., y Vío, C. P. (2004). Renal and hormonal effects of water deprivation in late-term pregnant rats. *Hypertension*, 44(3), 334–339.
- Sancho-Martínez, S. M., Blanco-Gozaño, V., Quiros, Y., Prieto-García, L., Montero-Gómez, M. J., Docherty, N. G., ... y López-Hernández, F. J. (2020). Impaired tubular reabsorption is the main mechanism explaining increases in urinary NGAL excretion following acute kidney injury in rats. *Toxicological Sciences*, 175(1), 75–86.
- Sancho-Martínez, S. M., Prieto, L., Blanco-Gozaño, V., Fontecha-Barriuso, M., Vicente-Vicente, L., Casanova, A. G., Prieto, M., Pescador, M., Morales, A. I., López-Novoa, J. M., Martínez-Salgado, C., y López-Hernández, F. J. (2015). Acute tubular necrosis: An old term in search for a new meaning within the evolving concept of acute kidney injury. *New Horizons in Translational Medicine*, 2(4–5), 110–117. <https://doi.org/10.1016/j.nhtm.2015.05.002>
- Santese, G., Stefano, C., Belletti, G., Boiani, M., Schipani, A., Trane, R., y Zacà, F. (2015). The role of aldosterone receptor blocker therapy in hypertension and heart

- failure. *IJC Metabolic and Endocrine*, 8, 34–37. <https://doi.org/10.1016/j.ijcme.2014.10.010>
- Sawdon, M. (2019). Characteristics of special circulations. *Anaesthesia and Intensive Care Medicine*, 20(3), 178–181. <https://doi.org/10.1016/j.mpaic.2019.01.011>
- Schetz, M., y Hoste, E. (2016). Understanding oliguria in the critically ill. *Intensive Care Medicine*, 43(6), 914–916.
- Schiffl, H. (2006). Renal recovery from acute tubular necrosis requiring renal replacement therapy: A prospective study in critically ill patients. *Nephrology Dialysis Transplantation*, 21(5), 1248–1252. <https://doi.org/10.1093/ndt/gfk069>
- Schiffl, H., y Lang, S. M. (2012). Update on Biomarkers of Acute Kidney Injury. *Molecular Diagnosis y Therapy*, 16(4), 199–207. <https://doi.org/10.1007/bf03262209>
- Schmidt-ott, K. M. (2011). *Neutrophil gelatinase-associated lipocalin as a biomarker of acute kidney injury — where do we stand today?* 26, 762–764. <https://doi.org/10.1093/ndt/gfr006>
- Schneider, V., Lévesque, L. E., Zhang, B., Hutchinson, T., y Brophy, J. M. (2006). Association of selective and conventional nonsteroidal antiinflammatory drugs with acute renal failure: A population-based, nested case-control analysis. *American Journal of Epidemiology*, 164(9), 881–889. <https://doi.org/10.1093/aje/kwj331>
- Schnermann, J. (2000). Tubuloglomerular feedback. *Advances in Organ Biology*, 9, 131–144. <https://doi.org/10.1385/1-59259-392-5:429>
- Schnermann, J., y Levine, D. Z. (2003). Paracrine Factors in Tubuloglomerular Feedback: Adenosine, ATP, and Nitric Oxide. *Annual Review of Physiology*, 65(1), 501–529. <https://doi.org/10.1146/annurev.physiol.65.050102.085738>
- Scott, J., Jones, T., Redaniel, M. T., May, M. T., Ben-Shlomo, Y., y Caskey, F. (2019). Estimating the risk of acute kidney injury associated with use of diuretics and renin angiotensin aldosterone system inhibitors: A population based cohort study using the clinical practice research datalink. *BMC Nephrology*, 20(481), 1–12. <https://doi.org/10.1186/s12882-019-1633-2>
- Scott, R. P., y Quaggin, S. E. (2015). The cell biology of renal filtration. *Journal of Cell Biology*, 209(2), 199–210. <https://doi.org/10.1083/jcb.201410017>

- Searns, J. B., Gist, K. M., Brinton, J. T., Pickett, K., Todd, J., Birkholz, M., y Soranno, D. E. (2020). Impact of acute kidney injury and nephrotoxic exposure on hospital length of stay. *Pediatric Nephrology*, 35(5), 799–806. <https://doi.org/10.1007/s00467-019-04431-3>
- Shahbaz, H., y Gupta, M. (2021). Creatinine Clearance. *StatPearls Publishing*.
- Sharma, N., Anders, H. J., y Gaikwad, A. B. (2019). Fiend and friend in the renin angiotensin system: An insight on acute kidney injury. *Biomedicine y Pharmacotherapy*, 110, 764–774. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2018.12.018>
- Shenfield, G. M., y Lobo, K. K. (2004). Drug combinations and impaired renal function—the “triple whammy.” *British Journal of Clinical Pharmacology*, 59(2), 239–243. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2125.2004.02188.x>
- Siddiqui, K., Al, B., Teena, M., George, P., Sarfaraz, S., Khalid, N., y Rubeaan, A. (2019). Urinary N -acetyl-beta- d -glucosaminidase (NAG) with neutrophil gelatinase-associated lipocalin (NGAL) improves the diagnostic value for proximal tubule damage in diabetic kidney disease. *3 Biotech*, 9(3), 1–7. <https://doi.org/10.1007/s13205-019-1593-z>
- Siew, E. D., y Himmelfarb, J. (2013). The inexorable rise of AKI: ¿Can we bend the growth curve? *Journal of the American Society of Nephrology*, 24(1), 3–5. <https://doi.org/10.1681/ASN.2012111115>
- Silver, S. A., y Chertow, G. M. (2017). The Economic Consequences of Acute Kidney Injury. *Nephron*, 137(4), 297–301. <https://doi.org/10.1159/000475607>
- Silver, S. A., Long, J., Zheng, Y., y Chertow, G. M. (2017). Cost of acute kidney injury in hospitalized patients. *Journal of Hospital Medicine*, 12(2), 70–76. <https://doi.org/10.12788/jhm.2683>
- Simmons, D. L., Botting, R. M., y Hla, T. (2004). Cyclooxygenase isozymes: The biology of prostaglandin synthesis and inhibition. *Pharmacological Reviews*, 56(3), 387–437. <https://doi.org/10.1124/pr.56.3.3>
- Singer, E., Markó, L., Paragas, N., Barasch, J., Dragun, D., Müller, D. N., Budde K. y Schmidt-ott, K. M. (2013). NIH Public Access. *Acta Physiologica*, 207(4), 663–672. <https://doi.org/10.1111/apha.12054>

- Singh, K. D., y Karnik, S. S. (2019). Angiotensin II receptors: structure- function and drug discovery. In *GPCRs: Structure, Function, and Drug Discovery*. Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-816228-6.00020-9>
- Slater, M. B., Gruneir, A., Rochon, P. A., Howard, A. W., Koren, G., y Parshuram, C. S. (2017). Identifying High-Risk Medications Associated with Acute Kidney Injury in Critically Ill Patients: A Pharmacoepidemiologic Evaluation. *Pediatric Drugs*, *19*(1), 59–67. <https://doi.org/10.1007/s40272-016-0205-1>
- Smith, J. A., y Schnellmann, R. G. (2018). Sepsis-Induced Acute Kidney Injury (Third Edit, Vols. 14–15). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-801238-3.64189-2>
- Soler, M. J., Lloveras, J., y Batlle, D. (2008). Enzima conversiva de la angiotensina 2 y su papel emergente en la regulación del sistema renina-angiotensina. *Medicina Clínica*, *131*(6), 230–236.
- Sousa, A. L. B., de Souza, L. M., Santana Filho, O. V., E Léda, V. H. F., y Rocha, P. N. (2020). Incidence, predictors and prognosis of acute kidney injury in nonagenarians: an-in-hospital cohort study. *BMC Nephrology*, *21*(34), 1–9. <https://doi.org/10.1186/s12882-020-1698-y>
- Sparks, M. A., Crowley, S. D., Gurley, S. B., Mirotsoy, M., y Coffman, T. M. (2014). Classical renin-angiotensin system in kidney physiology. *Comprehensive Physiology*, *4*(3), 1201–1228. <https://doi.org/10.1002/cphy.c130040>
- Stegbauer, J., y Coffman, T. M. (2011). New insights into angiotensin receptor actions: From blood pressure to aging. *Current Opinion in Nephrology and Hypertension*, *20*(1), 84–88. <https://doi.org/10.1097/MNH.0b013e3283414d40>
- Suarez, J., y Busse, L. W. (2020). New strategies to optimize renal haemodynamics. *Current Opinion in Critical Care*, *26*(6), 536–542. <https://doi.org/10.1097/MCC.0000000000000774>
- Suchy-Dicey, A. M., Laha, T., Hoofnagle, A., Newitt, R., Sirich, T. L., Meyer, T. W., Thummel, K. E., Yanez, N. D., Himmelfarb, J., Weiss, N. S., y Kestenbaum, B. R. (2016). Tubular secretion in CKD. *Journal of the American Society of Nephrology*, *27*(7), 2148–2155. <https://doi.org/10.1681/ASN.2014121193>
- Susantitaphong, P., Cruz, D. N., Cerda, J., Abulfaraj, M., Alqahtani, F., Koulouridis, I., y Jaber, B. L. (2013). World incidence of AKI: A meta-analysis. *Clinical Journal of*

- the American Society of Nephrology*, 8(9), 1482–1493.
<https://doi.org/10.2215/CJN.00710113>
- Taal, M., y Brenner, B. (1999). ACE-I vs angiotensin II receptor antagonists: prevention of renal injury in chronic rat models. *Journal of Human Hypertension*, 13(1), S51–S56. <https://doi.org/10.1038/sj.jhh.1000742>
- Te Riet, L., Van Esch, J. H. M., Roks, A. J. M., Van Den Meiracker, A. H., y Danser, A. H. J. (2015). Hypertension: Renin-Angiotensin-Aldosterone System Alterations. *Circulation Research*, 116(6), 960–975.
<https://doi.org/10.1161/CIRCRESAHA.116.303587>
- Terker, A. S., y Ellison, D. H. (2015). Renal mineralocorticoid receptor and electrolyte homeostasis. *American Journal of Physiology - Regulatory Integrative and Comparative Physiology*, 309(9), R1068–R1070.
<https://doi.org/10.1152/ajpregu.00135.2015>
- Thoene-Reineke, C., Rumschüssel, K., Schmerbach, K., Krikov, M., Wengenmayer, C., Godes, M., Mueller, S., Villringer, A., Steckelings, U., Namsolleck, P., y Unger, T. (2011). Prevention and intervention studies with telmisartan, ramipril and their combination in different rat stroke models. *PLoS One*, 6(8), e23646.
- Touyz, R. M. (2014). Blood Pressure Regulation and Pathology. *Cellular and Molecular Pathobiology of Cardiovascular Disease*, 257–275. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-405206-2.00014-4>
- Towbin, H., Staehelin, T., y Gordon, J. (1979). Electrophoretic transfer of proteins from polyacrylamide gels to nitrocellulose sheets: procedure and some applications. *Biotechnology*, 24(9), 145–149.
- Tsai, T. Y., Chien, H., Tsai, F. C., Pan, H. C., Yang, H. Y., Lee, S. Y., Hsu, H. H., Fang, J. T., Yang, C. W., y Chen, Y. C. (2017). Comparison of RIFLE, AKIN, and KDIGO classifications for assessing prognosis of patients on extracorporeal membrane oxygenation. *Journal of the Formosan Medical Association*, 116(11), 844–851.
<https://doi.org/10.1016/j.jfma.2017.08.004>
- Ungprasert, P., Cheungpasitporn, W., Crowson, C. S., y Matteson, E. L. (2015). Individual non-steroidal anti-inflammatory drugs and risk of acute kidney injury: A

- systematic review and meta-analysis of observational studies. *European Journal of Internal Medicine*, 26(4), 285–291. <https://doi.org/10.1016/j.ejim.2015.03.008>
- Vaidya, V. S., Ferguson, M. A., y Bonventre, J. V. (2008b). Biomarkers of Acute Kidney Injury. *Annual Review of Pharmacology and Toxicology*, 48, 463–493. <https://doi.org/10.1146/annurev.pharmtox.48.113006.094615>.
- Vogt, L., Laverman, G. D., y Navis, G. (2010). Time for a comeback of NSAIDs in proteinuric chronic kidney disease. *Netherlands Journal of Medicine*, 68(12), 400–407.
- Voller, A., Bidwell, D. E., y Bartlett, A. (1976). Enzyme immunoassays in diagnostic medicine. Theory and practice. *Bulletin of the World Health Organization*, 53(1), 55–65.
- Waikar, S. S., Gunaratnam, L., y Bonventre, J. V. (2013). Pathophysiology of acute kidney injury. In *National Kidney Foundation's Primer on Kidney Diseases, Sixth Edition*. Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/B978-1-4557-4617-0.00032-7>
- Waikar, S. S., Liu, K. D., y Chertow, G. M. (2008). Diagnosis, epidemiology and outcomes of acute kidney injury. *Clinical Journal of the American Society of Nephrology*, 3(3), 844–861. <https://doi.org/10.2215/CJN.05191107>
- Walker, K. A., Cai, X., Caruana, G., Thomas, M. C., Bertram, J. F., y Kett, M. M. (2012). High nephron endowment protects against salt-induced hypertension. *American Journal of Physiology - Renal Physiology*, 303(2), 253–258. <https://doi.org/10.1152/ajprenal.00028.2012>
- Wang, H., Garvin, J. L., D'Ambrosio, M. A., Ren, Y., y Carretero, O. A. (2010). Connecting tubule glomerular feedback antagonizes tubuloglomerular feedback in vivo. *American Journal of Physiology - Renal Physiology*, 299(6), 1374–1378. <https://doi.org/10.1152/ajprenal.00403.2010>
- Wang, J., Zhang, Y., Yang, X., Wang, X., Zhang, J., Fang, J., y Jiang, X. (2012). Hemodynamic Effects of Furosemide on Renal Perfusion as Evaluated by ASL-MRI. *Academic Radiology*, 19(10), 1194–1200. <https://doi.org/10.1016/j.acra.2012.04.021>

- Washinger, K. (2017). Acute Kidney Injury in Adults: An Underdiagnosed Condition. *Journal for Nurse Practitioners*, 13(10), 667-674.e1. <https://doi.org/10.1016/j.nurpra.2017.08.005>
- Weir, M. R. (2002). Renal effects of nonselective NSAIDs and coxibs. *Cleveland Clinic Journal of Medicine*, 69(1), 53–58. https://doi.org/10.3949/ccjm.69.suppl_1.si53
- Weiss, R., Meersch, M., Pavenstädt, H. J., y Zarbock, A. (2019). Acute kidney injury a frequently underestimated problem in perioperative medicine. *Deutsches Arzteblatt International*, 116(49), 833–842. <https://doi.org/10.3238/arztebl.2019.0833>
- Wetmore, J. B., Tang, F., Sharma, A., Jones, P. G., y Spertus, J. A. (2015). The Association of Chronic Kidney Disease with the Use of Renin-Angiotensin System Inhibitors after Acute Myocardial Infarction. *Am Heart J.*, 170(4), 735–743. <https://doi.org/doi:10.1016/j.ahj.2015.07.019>
- White, K. E. (2012). Research into the structure of the kidney glomerulus - making it count. *Micron*, 43(10), 1001–1009. <https://doi.org/10.1016/j.micron.2012.04.013>
- Whiting, P., Morden, A., Tomlinson, L. A., Caskey, F., Blakeman, T., Tomson, C., Stone, T., Richards, A., Savovic, J., y Horwood, J. (2017). What are the risks and benefits of temporarily discontinuing medications to prevent acute kidney injury? A systematic review and meta-Analysis. *BMJ Open*, 7(4), 1–9. <https://doi.org/10.1136/bmjopen-2016-012674>
- Williams, B., Mancia, G., Spiering, W., Rosei, E. A., Azizi, M., Burnier, M., Clement, D. L., Coca, A., De Simone, G., Dominiczak, A., Kahan, T., Mahfoud, F., Redon, J., Ruilope, L., Zanchetti, A., Kerins, M., Kjeldsen, S. E., Kreutz, R., Laurent, S., Gregory Y. H., Lip R., McManus, K. Narkiewicz, F., Ruschitzka, Roland, Eygeny, S., Costas T., Aboyans V. Desormis, I.y Zamorano, J. L. (2018). 2018 ESC/ESH Guidelines for themanagement of arterial hypertension. In *European Heart Journal*, 39(33). <https://doi.org/10.1093/eurheartj/ehy339>
- Winkelmayer, W. C., Weinstein, M. C., Mittleman, M. A., Glynn, R. J., y Pliskin, J.S. (2002). Health Economic Evaluations: The Special Case of End-Stage. *Medical Decision; akimg*, 22(5), 417-430. <https://doi.org/10.1177/027298902236927>

- Wolf, G. (2006). Renal injury due to renin – angiotensin – aldosterone system activation of the transforming growth factor- β pathway. *Kidney International*, 70(11), 1914–1919. <https://doi.org/10.1038/sj.ki.5001846>
- Won, J. H., Ehret, G., Chakravarti, A., y Olshen, R. A. (2011). SNPs and other features as they predispose to complex disease: Genome-wide predictive analysis of a quantitative phenotype for hypertension. *PLoS ONE*, 6(11), 1–8. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0027891>
- Wong, W., Coward, R. J. M., y Morris, M. C. (2001). Ibuprofen induced acute renal failure in an infant. *New Zealand Medical Journal*, 114(1140), 431.
- Zczech, L., y Azar, I. (2004). Projecting the United States ESRD population: issues regarding treatment of patients with ESRD. *Kidney International*, 66, S3–S7. <https://doi.org/10.1111/j.1523-1755.2004.09002.x>
- Zhang, J. D., Patel, M. B., Song, Y. S., Griffiths, R., Burchette, J., Ruiz, P., Sparks, M. A., Yan, M., Howell, D. N., Gomez, J. A., Spurney, R. F., Coffman, T. M., y Crowley, S. D. (2012). A Novel role for type 1 angiotensin receptors on T lymphocytes to limit target organ damage in hypertension. *Circulation Research*, 110(12), 1604–1617. <https://doi.org/10.1161/CIRCRESAHA.111.261768>
- Zhang, X., Donnan, P. T., Bell, S., y Guthrie, B. (2017). Non-steroidal anti-inflammatory drug induced acute kidney injury in the community dwelling general population and people with chronic kidney disease: Systematic review and meta-analysis. *BMC Nephrology*, 18(1), 1–12. <https://doi.org/10.1186/s12882-017-0673-8>
- Zhu, Y., Xu, P., Wang, Q., Luo, J. Q., Xiao, Y. W., Li, Y. Y., Zhou, Y. G., Cave, A., y Banh, H. L. (2018). Diclofenac--acetaminophen combination induced acute kidney injury in postoperative pain relief. *Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 21(1), 19–26. <https://doi.org/10.18433/J3SH21>

