

# EFECTO NEFROPROTECTOR DEL ÁCIDO ASCÓRBICO EN UN MODELO DE DAÑO RENAL INDUCIDO POR GENTAMICINA EN CONEJOS

Javier Antonio Padilla Funes<sup>1</sup>, Analydia Gutiérrez Bonilla<sup>1</sup>,  
William Andrés Hoyos Arango<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Doctor en Medicina. Universidad Dr. José Matías Delgado.

<sup>2</sup> Doctor en Medicina. Coordinador de Cátedra de Diagnóstico Físico. Dpto. de Medicina Interna. Universidad Dr. José Matías Delgado.

CIMEL 2012; 17(2): 55-61

## RESUMEN

**Objetivo.** Uno de los efectos secundarios más notables de la Gentamicina es su nefrotoxicidad. En este estudio se propone el posible efecto nefroprotector del ácido ascórbico como barredor de radicales libres de oxígeno. **Metodología.** Se ejecutó un estudio experimental en 24 conejos machos, raza Nueva Zelanda, cuyo peso fue de 1,5 +/- 0,5 Kg. Los sujetos experimentales fueron distribuidos en tres grupos. El grupo Control se manejó con Gentamicina a dosis de 80 mg/Kg/día por vía IM. El grupo Ácido Ascórbico se trató a dosis de 200 mg/kg/día vía IP y Gentamicina 80mg/Kg/día IM. El grupo Sham se manejó con SSN 0,9% por vía IP e IM, durante cinco días consecutivos, para cada grupo. Se determinaron los siguientes parámetros: creatinina sérica, N-Acetil β-D glucosaminidasa urinaria (NAG-U), diuresis e histopatología de las muestras renales. **Resultados.** La creatinina sérica fue significativamente mayor para el grupo Control respecto al grupo Ácido Ascórbico (p<0,05). Respecto a la diuresis, se observó una tendencia a la poliuria en el grupo Control. En cuanto a NAG-U, se observó inhibición completa de la actividad enzimática en el grupo Ácido Ascórbico. El análisis histopatológico demuestra hallazgos de necrosis tubular aguda en el 100% del grupo control, mientras que en el grupo Ácido Ascórbico se obtuvo en un 50% de los sujetos únicamente detritos intraluminales. **Conclusiones.** La administración concomitante de Ácido Ascórbico con Gentamicina, disminuye significativamente el daño tubular renal, evidenciado en los valores de creatinina sérica, NAG, diuresis e histopatología renal.

**Palabras Clave:** Ácido Ascórbico; gentamicinas; túbulo renales proximales; conejos.

## NEPHROPROTECTIVE EFFECT OF ASCORBIC ACID IN A GENTAMICIN INDUCED KIDNEY INJURY MODEL IN RABBITS

### ABSTRACT

**Objective.** One of the most notable side effects of gentamicin is its nephrotoxicity. This study proposes a possible renoprotective effect of ascorbic acid as a scavenger of oxygen free radicals. **Methodology.** Experiments were done on 24 male New Zealand rabbits, whose weight was 1,5 +/- 0,5 kg. Experimental subjects were divided into 3 groups. The control group was managed with gentamicin at doses of 80 mg/kg/day intramuscularly. Ascorbic Acid group was treated at doses of 200 mg/kg/day IP and IM gentamicin 80mg/Kg/day. Sham group was managed with 0,9% SSN via IP and IM for 5 consecutive days for each group. The following parameters were determined: serum creatinine, urinary N-acetyl β-D glucosaminidase (U-NAG), diuresis and renal histopathology. **Results.** The serum creatinine was significantly higher for the control group compared to Ascorbic Acid group (p <0,05). With regard to diuresis, there was a tendency to polyuria in the control group. As to U-NAG, complete inhibition of enzymatic activity was observed in the Ascorbic Acid group. Histological examination demonstrated findings of acute tubular necrosis in 100% of the Control group, while in the Ascorbic Acid group was obtained in 50% of the subjects only intraluminal debris. **Conclusion.** Concomitant administration of ascorbic acid with gentamicin significantly decreases the renal tubular damage, as evidenced in the serum creatinine, NAG, diuresis and renal histopathology.

**Keywords:** Ascorbic acid; gentamicins; kidney tubules, proximal; rabbits.

## INTRODUCCIÓN

La Gentamicina es un antibiótico (ATB) aminoglucósido usado rutinariamente en la práctica clínica para el tratamiento de infecciones por bacterias Gram-negativas o en sinergia con antibióticos Beta-lactámicos. Además de la eficacia clínica, la Gentamicina se recomienda como antibiótico de primera línea paramuchos casos de infecciones graves, por tener una baja tasa de resistencia y costo razonable. Sin embargo, su uso frecuentemente se limita por riesgo de efectos secundarios tales como nefrotoxicidad y ototoxicidad<sup>(1,2,3)</sup>.

La nefrotoxicidad por Gentamicina se caracteriza por alteraciones morfológicas incluyendo destrucción de organelas celulares y necrosis, inflamación lisosomal y vacuolización mitocondrial. Estas reacciones anteceden alteraciones funcionales como proteinuria, aumento de los niveles de urea y creatinina sérica, que finalmente conducen a la Injuria Renal Aguda (IRA)<sup>(2)</sup>.

El riñón es uno de los sitios privilegiados de acción de la Gentamicina. Sus estructuras de mayor fijación son los túbulo renales, específicamente la porción proximal, donde se ha determinado mayor concentración de acción del ATB. La

acumulación de Gentamicina en esta región depende de la presencia de complejo proteínico megalina-cubulina situado en el túbulo proximal, encargado de realizar endocitosis de moléculas de ATB a la célula, además de fijación catiónica de los aminoglucósidos con dicha porción tubular<sup>(4,5)</sup>.

Al ingresar a la célula, el ATB se transporta a través del complejo endosomal, acumulándose en los lisosomas, aparato de Golgi y retículo endoplásmico. Al saturar la capacidad de los lisosomas, su membrana colapsa, vertiendo el contenido de enzimas proteolíticas al citosol e iniciando así una cascada de reacciones que conllevan la muerte celular. Otra vía de muerte celular se presenta por disfuncionalidad del retículo endoplásmico, impidiendo síntesis protéica. Al interactuar directamente con la mitocondria, se activa la vía intrínseca apoptótica, impidiendo la formación de ATP, inhibiendo la respiración celular<sup>(6)</sup>, y produciendo estrés oxidativo por medio de la producción de especies reactivas de oxígeno (ROS), como anión superóxido y radicales hidroxilo<sup>(7)</sup>. Ambas especies se caracterizan por su eminente efecto citotóxico.

El aumento de ROS y de su actividad en el endotelio vascular con cambios en flujo renal, el daño a células mesangiales y tasa de filtrado glomerular, son efectos que contribuyen por medio de vías alternas, a la IRA. Es por esto que diversos estudios se han enfocado en la reducción del daño renal por ROS, ya que son autores principales en la respuesta inflamatoria que produce necrosis tubular<sup>(8)</sup>.

Entre diversas sustancias que han demostrado tener efecto nefroprotector, se encuentra el ácido ascórbico, actuando como donante de electrones para neutralizar a ROS, evitando el daño al ADN, membranas celulares y demás organelas<sup>(9,10)</sup>.

En este sentido, el objetivo de la investigación fue determinar el potencial efecto nefroprotector del ácido ascórbico contra la injuria renal aguda inducida por Gentamicina.

## MATERIALES Y METODOS

Estudio experimental animal controlado, aleatorizado, en el cual se evaluó el efecto nefroprotector del ácido ascórbico en un modelo de daño renal inducido por Gentamicina. Se utilizaron 24 conejos machos, raza Nueva Zelanda, con peso entre  $1,5 \pm 0,5$  Kg. Los animales fueron alojados en cajas metabólicas individuales, bajo condiciones controladas (12 horas de luz, temperatura ambiente de 16 a 22°C). Alimentos y agua se proporcionaron ad libitum. Todos los procedimientos experimentales se realizaron de acuerdo a los principios

del cuidado y utilización de animales de laboratorio en investigación. El bienestar animal se mantuvo bajo los lineamientos del Consejo Canadiense para el Cuidado Animal (CALAM), 2007<sup>(11)</sup>.

El procedimiento se dividió en dos etapas: ambientación y fase experimental, ambos con una duración de siete días. Desde el inicio del procedimiento se aislaron los sujetos individualmente en su respectiva caja metabólica, cuantificando diariamente el volumen urinario y su peso. Posteriormente fueron seleccionados al azar y se distribuyeron en tres grupos: Grupo Sham: se administró solución salina normal (SSN) 0,9% por vía intramuscular (IM) y por vía intraperitoneal (IP), Grupo Control: se administró Gentamicina a dosis de 80 mg/Kg/día IM, más SSN 0,9% IP, por cinco días consecutivos, Grupo Daño Renal/Ácido Ascórbico: se administró Gentamicina a dosis de 80 mg/kg/día IM, más Ácido ascórbico a dosis de 200 mg/Kg/día intraperitoneal (IP), durante cinco días consecutivos.

Se tomaron tres muestras sanguíneas de la siguiente manera: primera toma: al finalizar la fase de ambientación, previo al inicio de la fase experimental; segunda toma: al tercer día de la fase experimental, y tercera toma: 48 horas posteriores a la finalización de la fase experimental, todas tomadas de la vena auricular central. Cada muestra sanguínea fue centrifugada y posteriormente procesada en equipo automatizado para análisis de creatinina sérica. Las muestras urinarias fueron recogidas de forma individual en depósitos instalados previamente en cada caja metabólica. Las muestras recogidas de cada 24 horas, fueron cuantificadas en volumen (mL), durante ambientación y fase experimental, para luego obtener el gasto urinario por sujeto (mL/Kg/h). Al igual que con las muestras sanguíneas, las muestras urinarias fueron tomadas en los mismos tres momentos para analizar la actividad enzimática. Estas fueron analizadas con el kit enzimático N-acetil-beta-D-glucosaminidasa (Roche Diagnostic Systems).

Al finalizar los siete días de la fase experimental, se realizó el procedimiento quirúrgico de nefrectomía bilateral. Previo al inicio de ésta, se administró a cada sujeto experimental, anestesia con Ketamina a 50 mg/kg/dosis subcutánea (SC) y Xylazina a 10mg/kg/dosis SC. Luego se infiltró Lidocaína al 2% en el sitio de incisión quirúrgica a nivel paravertebral subcostal, para luego realizar el procedimiento. Finalmente se llevó a cabo eutanasia a los sujetos experimentales, de acuerdo a los Lineamientos de Eutanasia de la Asociación Americana de Médicos Veterinarios (AVMA), 2007<sup>(12)</sup>.

Posterior a la nefrectomía, se procedió a pesar cada riñón y

luego a la sección longitudinal de las muestras. La fijación se hizo con formalina buferizada al 10%.

Tras la preparación se realizaron cortes al micrótopo rotatorio. Se efectuaron dos cortes de cada riñón. Finalmente se realizó tinción histoquímica de hematoxilina eosina, para ser interpretadas histológicamente con microscopio binocular de luz por un médico patólogo.

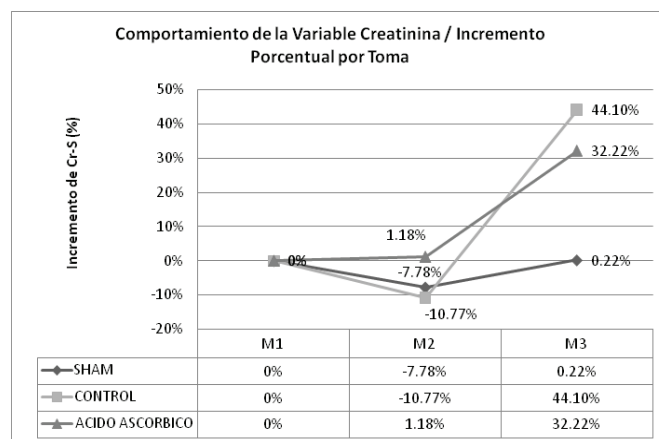
Como medicamentos, a lo largo de toda la investigación, se utilizó Sulfato de Gentamicina (Laboratorios Vijosa, El Salvador, 80mg/mL, viales de 2mL) y Ácido Ascórbico (Laboratorios Paill, ampollas de 3g/10 mL). Los datos obtenidos fueron introducidos a la base de datos del sistema computarizado GraphPad versión Prism 5.0 Project, por medio del cual se procesó la información.

Se determinó la normalidad de cada variable, mediante el test de D'Agostino Pearson. Las variables que cumplieron con los parámetros de normalidad, fueron analizadas posteriormente con el test de ANOVA de un factor, y se utilizó el post test de Bonferroni para comparar a cada grupo entre sí. Las variables que no cumplieron con los parámetros de normalidad, fueron analizadas con la prueba no paramétrica Kruskal-Wallis y posteriormente se analizaron con el post test de Dunn

**RESULTADOS**

El comportamiento de creatinina en cada grupo se analizó en cada uno de los momentos de la toma de muestra. Los grupos Sham y Control exhibieron un comportamiento similar, observándose decrementos de los valores en el segundo momento de la muestra, 7,78% y 10,77% respectivamente, mientras que para el grupo tratado con Ácido ascórbico, se describió un aumento de 1,18%. El análisis concluyente del incremento del valor de creatinina desde la primera muestra (M1) hasta el final del proceso experimental (M3) mostró incrementos porcentuales de 44,10% en el grupo Control, 0,22% en el grupo Sham y 32,22% en el grupo de Ácido ascórbico. (Gráfico 1)

El análisis intragrupo por ANOVA no mostró variación estadísticamente significativa para los diferentes tiempos de muestra (M1, M2 y M3) en el grupo Sham  $p=0,098$ , mientras que los cambios observados en el tiempo y la tendencia al incremento de los valores de creatinina (M1-M3 y M2-M3) en los grupos Control y Ácido Ascórbico mostraron significancia estadística ( $p<0,0001$ ) y ( $p<0,001$ ). Los sujetos de experimentación fueron analizados de acuerdo al incremento



**Gráfico 1. Variación porcentual de la media de Cr-S por grupo y momento de muestra**

de creatinina basal (M1) y final (M3) para estadificar el grado de injuria según los criterios propuestos por la ADQI (AcuteDialysisQualityInitiative) para injuria renal aguda, RIFLE (Risk, Injury, Failure, Loss, End-Stage Renal Disease) <sup>(13,14,15)</sup>.

La comparación entre grupos mediante test de ANOVA para la primera (M1) y segunda toma (M2) no mostró significancia estadística ( $p=0,3545$ ) y ( $p=0,0843$ ), el análisis correspondiente a la toma final del procedimiento experimental exhibió variación estadística  $p=0,0123$ , presentándose entre el grupo Control contra grupo Sham ( $p<0,05$ ) y entre Control contra Ácido Ascórbico ( $p<0,05$ ).

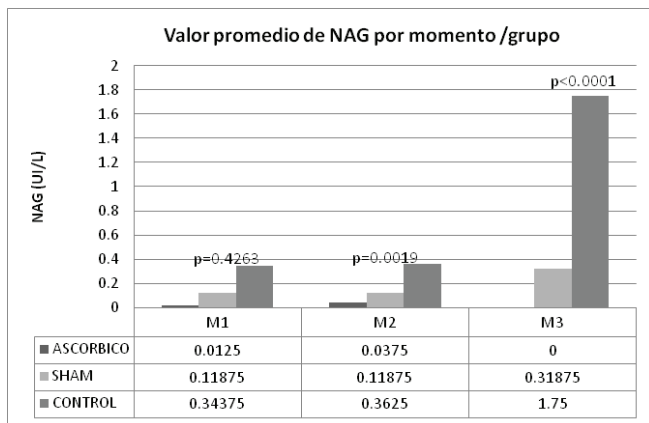
En cuanto al gasto urinario, los resultados de cuantificación de la diuresis debieron ser analizados con precaución, debido a fallas en el diseño de las cajas metabólicas en donde se presentaban pérdidas urinarias no cuantificables. Los resultados presentados son el resultado de la comparación de medias de las diuresis día/grupo experimental. Se observó tendencia a la poliuria en la fase inicial de adaptación con una posterior estabilización a la normalidad (séptimo día); entre el noveno y onceavo día es perceptible un incremento de la diuresis dentro del grupo Control alcanzando niveles poliúricos. Los grupos Sham y Ácido Ascórbico se mantuvieron en rangos normales hasta la finalización de la fase experimental.

Con respecto a la enzima N-acetil β-D glucosaminidasa (NAG), la prueba exploratoria de normalidad mediante el test de D'Agostino Pearson no fue superada por ella, por lo que los datos fueron analizados mediante estadística no paramétrica. (Métodos de Friedman y Kruskal Wallis).

El análisis de la actividad enzimática de NAG, mediante método de Friedman, mostró significancias estadísticas para los grupos Control y Sham ( $p=0,0003$ ) y ( $p<0,0001$ ), respectiva-

mente; focalizada para el grupo control entre la primera y la tercera medición (M1-M3) ( $p < 0,0001$ ), y para el grupo Sham se identificaron valores con diferencias estadísticamente significativas en M1-M3 y M2-M3, ( $p < 0,001$ ) y ( $p < 0,05$ ) respectivamente. El grupo tratado con Ácido Ascórbico no evidenció significancia estadística ( $p = 0,3651$ ) entre las tomas. Los análisis por Kruskal Wallis de los valores correspondientes a la actividad enzimática entre cada grupo y en la toma basal (M1) no mostraron diferencias estadísticas ( $p = 0,4263$ ). Mientras que para M2 y M3 fueron significativas ( $p = 0,019$ ) y ( $p < 0,0001$ ) respectivamente (Gráfico 2); el post test de Dunn reveló diferencias entre los grupos Control - Ácido Ascórbico en  $M2 = p < 0,01$  y  $M3 = p < 0,001$ .

**Gráfico 2. Actividad enzimática de NAG por grupo de experimentación y tiempo**



Respecto a la histopatología renal macroscópica, no se encontraron alteraciones anatómicas congénitas o preestablecidas en las unidades experimentales. El análisis histopatológico por microscopía de luz, reveló los siguientes hallazgos de forma incidental: microquistes renales, infiltración grasa, congestión vascular glomerular. Para estadificar los cortes histológicos, se utilizó la escala propuesta por Houghton & cols., la cual indica criterios para clasificar el daño tubular proximal por microscopía de luz<sup>(16,17)</sup>. El grado "0" se refiere a la normalidad; "1" descamación de células tubulares proximales en menos del 1% de los túbulo examinados; "2" necrosis tubular epitelial y descamación en menos del 50% de los túbulo examinados; "3" más del 50% de los túbulo presentan necrosis y descamación, distinguiendo algunos túbulo intactos con facilidad; "4" necrosis tubular total o casi total (90-100%). Se identificó al 100% de los sujetos del grupo Sham con criterios de normalidad. Luego, en el grupo Control se ubicó 87,5% dentro del estadio 3, y el 12,5% restante en el estadio 4. Finalmente, en el grupo de Ácido Ascórbico 50% se encontró

dentro de la categoría 1, mientras que el 50% restante correspondió a la categoría 2.

## DISCUSIÓN

El modelo animal de nefrotoxicidad inducida por Gentamicina permitió evaluar el efecto protector de Ácido Ascórbico mediante la determinación de parámetros bioquímicos, enzimáticos e histopatológicos. A su vez, este logra reproducir el efecto deletéreo de la dosis de Gentamicina utilizada en el tiempo. El resultado del análisis estadístico demuestra variaciones estadísticas dentro del grupo Control en los diferentes momentos ( $p < 0,05$ ), además se observa la tendencia a la elevación de los niveles séricos de creatinina, con el incremento concomitante de la actividad enzimática (NAG) con respecto a los demás grupos experimentales.

La tendencia al incremento de los niveles de Cr-S entre M2 y M3 (72 horas), concuerdan con la literatura, donde se cita que la elevación de la creatinina logra detectarse a partir de las primeras 48-72 horas posteriores a la injuria renal<sup>(18,19)</sup>. Sin embargo los incrementos porcentuales dados de M1 a M3 fueron de 0,22% en el grupo Sham ( $p = 0,0989$ ), 44,1% para el grupo tratado con Gentamicina ( $p = 0,0001$ ) y 32,22% para el grupo tratado con Ácido Ascórbico ( $p = 0,0011$ ). Dichos resultados muestran un efecto amortiguador leve en el incremento de creatinina, en comparación al daño ocasionado por Gentamicina administrada aisladamente. Esta diferencia no reportó significancia estadística, pero es sustentada por la tendencia en la disminución observada en los parámetros de actividad enzimática e histopatología que se reportarán más adelante. Los estudios realizados por Stojiljkovic et al, 2010; Kadkhodae et al, 2005, reflejan tendencias similares en el comportamiento de Cr-S posterior al tratamiento único con Gentamicina vs. tratamiento con Gentamicina y Ácido Ascórbico administrado simultáneamente<sup>(20,21)</sup>.

Al analizar las muestras de Cr-S individualmente, se evidenció que, según la clasificación RIFLE, el 100% de los sujetos del grupo Sham se encuentra dentro de una categoría "Normal", mientras que en el grupo Control se encontró una distribución de la estadificación en la categoría "Riesgo" a un 50% de las unidades experimentales, 12,5% en "Injuria", y un 37,5% restante en el grado de "Normal". En forma contrastante, el grupo tratado con Ácido Ascórbico en su mayoría 87,5% se ubicó en la categoría "Normal" y un 12,5% ubicado en "Riesgo", permitiendo concluir que la aplicación de Gentamicina en el modelo genera mayores porcentajes de daño



renal; resultados que extrapolados a información bibliográfica clínica muestran un comportamiento similar. Selby et al, en 2009, estudiaron durante un mes a 228 pacientes tratados con Gentamicina a los que se monitorizó sus niveles de creatinina sérica; los resultados dentro de la clasificación RIFLE obtuvieron porcentajes de 17,7% en Riesgo, 4,3% en Injuria, 2,4% en Fallo<sup>(22)</sup>.

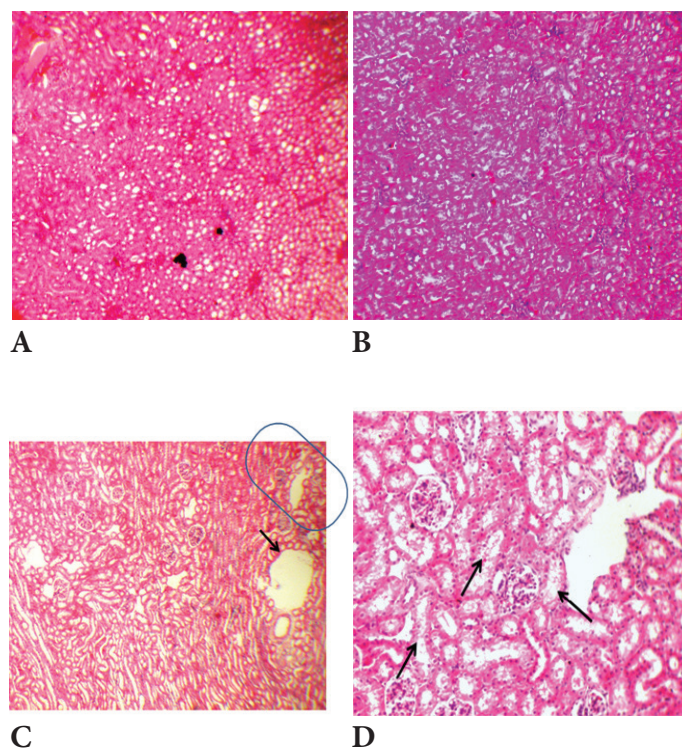
La actividad enzimática de N-Acetil- $\beta$ -D glucosaminidasa guarda una estrecha relación con el daño del túbulo proximal renal, sitio en donde se localiza el daño por AMG, el incremento de las cifras de la actividad enzimática son proporcionales a la magnitud del daño tubular proximal<sup>(23,24)</sup>, en el modelo los valores encontrados resultaron ser ascendentes para el grupo Control con una en M1 de 0,4287 UI/L y 1,4 UI/L en M3 (327%), en el grupo Sham una elevación porcentual de 185% y ausencia de elevación para el grupo tratado con Ácido Ascórbico. Estos resultados son esperanzadores a favor de la terapia con Ácido Ascórbico, respaldado por Kadkhodaeet.al en 2005, quienes reportaron la inhibición de las enzimas urinarias mediante la administración oral de este fármaco en dosis de 200 mg, solo o en combinación con vitamina E, en ratas tratadas con Gentamicina.

El gasto urinario al inicio de la fase de ambientación estuvo manifestado en poliuria, muy probablemente debido a estrés de los sujetos de experimentación. Después de la fase de ambientación se consigue una estabilización previa a la fase terapéutica.

La fase de tratamiento mostró una tendencia al aumento del gasto urinario, sin embargo los niveles de este en el grupo control alcanzaron niveles poliúricos entre el 9°-11° como lo describe López-Novoa, 2011, en donde se afirma el desarrollo de una falla renal no oligúrica o poliúrica por el uso de aminoglucósidos. Dicha tendencia no fue observada en los grupos Sham o Ácido Ascórbico, donde se observaron valores dentro de los límites normales de diuresis.

El análisis histopatológico muestra lesiones principalmente en el epitelio tubular proximal, tal como se ha observado en otros estudios que aplican modelos similares en los que se ha administrado Gentamicina, evidenciando hallazgos de necrosis tubular aguda<sup>(20,25,26)</sup>.

Los resultados derivados del estudio muestran un 63% de unidades experimentales con detritos intraluminales proteínicos, hallazgos referentes a la pérdida del borde en cepillo (en un 50%), cambios celulares mitóticos (13%), restos proteíni-



**Imagen 3.**

**A.** Necrosis tubular >50%. Grado 3 según clasificación de Houghton y cols. (Riñón izquierdo del Conejo #5 del grupo CONTROL;  $\times 4$ , H&E). **B.** Necrosis tubular total o casi total. Grado 4. (Riñón derecho del conejo #4 del grupo CONTROL;  $\times 4$ , H&E). **C.** Presencia de microquiste renal (marcador). Hallazgo de necrosis <1% en área delimitada. (Riñón izquierdo del Conejo #8 del grupo ASCÓRBICO;  $\times 4$ , H&E). **D.** Descamación tubular en túbulos necróticos. Grado 1 de clasificación de Houghton. (Riñón derecho del conejo #5 del grupo ASCÓRBICO;  $\times 10$ , H&E).

cos intraluminales (13%), todos ellos indicadores de necrosis tubular renal. En cuanto al grupo de Ácido Ascórbico, este desarrolló únicamente presencia de detritos intraluminales en un 50% de las unidades. Los demás hallazgos de necrosis tubular se encontraron ausentes. Stojiljkovic et al, y Kadkhodae et. al reportan estos hallazgos de igual manera. Es importante recalcar que la presencia de las características anteriores fueron vistas a predominancia del grupo tratado con Gentamicina, contrario al comportamiento del grupo Sham y Ácido Ascórbico, donde las alteraciones histopatológicas fueron significativamente menores o nulas (Imagen 3).

La evidencia obtenida del modelo permite concluir que el Ácido Ascórbico aminora el efecto nefrotóxico de la Gentamicina, inhibe la actividad enzimática y disminuye los porcentajes relativos de daño renal convirtiéndolo en un agente nefroprotector. Los resultados indican que la Gentamicina a dosis de 80 mg/kg/día vía I.M. en conejos, durante un periodo de cinco días, se comporta conforme al escenario clínico, por

lo que constituye un modelo experimental para estudios de daño por AMG. A pesar de no haber obtenido una diferencia estadísticamente significativa, el Ácido Ascórbico presentó niveles séricos de creatinina considerablemente menores que el grupo Control. La actividad de la enzima N-acetil  $\beta$ -D glucosaminidasa fue considerablemente mayor en el grupo manejado aisladamente con Gentamicina. El Ácido Ascórbico inhibe totalmente la actividad de la enzima N-acetil-  $\beta$ -D glucosaminidasa a dosis de 200 mg/kg/día por vía intraperitoneal, durante un período de cinco días. A través del análisis del gasto urinario, se concluye que la Gentamicina induce una falla renal no oligúrica/polirúrica. La Gentamicina induce lesiones en el túbulo proximal renal, visibles a la microscopia de luz, relacionadas a las alteraciones bioquímicas, enzimáticas y funcionales del riñón, mientras que el Ácido Ascórbico aminora histopatológicamente el daño renal. Esto abre paso a futuras investigaciones, que podrán utilizar diferentes parámetros bioquímicos y fisiológicos y con vías de administración menos invasivas, que permitan tener igual o mejores resultados con el fin de poderlo utilizar posteriormente de forma concomitante en tratamientos con aminoglucósidos en seres humanos.

## AGRADECIMIENTOS

A Laboratorios Vijosa, El Salvador, por contribución al aportar parte de los viales de Gentamicina utilizados en la investigación. Al Dr. Alfredo Galán, Dr. William Hoyos Arango y Dr. Eusebio Argueta, por sus aportes y conocimientos en el desarrollo del presente trabajo.

## Correspondencia:

Javier Antonio Padilla Funes  
Asociación de Estudiantes de Medicina (ASESMED-UJMD)  
Alameda Las Colinas pte. #49 A, Residencial La Hacienda, San José Villanueva.  
La Libertad, El Salvador  
Email: japipd90@gmail.com  
Tel. (503) 2306-3559

**Recibido:** 27/09/2012

**Aprobado:** 06/05/2013

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Lopez-Novoa JM, Quiros Y, Vicente L, Morales AI, Lopez-Hernandez FJ. New insights into the mechanism of aminoglycoside nephrotoxicity: an integrative point of view. *Kidney Int.* 2011 Jan;79(1):33–45.
2. Mingeot-Leclercq MP, Tulkens PM. Aminoglycosides: nephrotoxi-

- city. *Antimicrob. Agents Chemother.* 1999 May;43(5):1003–12.
3. L. Rivas-Cabañero, A. Rodríguez-Barbero, N. Eleno y J. M. López-Novoa. Mecanismos básicos de nefrotoxicidad. *NEFROLOGIA.* Vol. XV. Suplemento 1, 1995.
4. Ustundag S, Yalcin O, Sen S, Cukur Z, Ciftci S, Demirkan B. Experimental Myoglobinuric Acute Renal Failure: The Effect of Vitamin C. *Ren Fail.* 2008 Jan;30(7):727–35.
5. Kumar A, Fausto. Robins y Cotran. *Patología Estructural y Funcional.* 7º ed. España: Elsevier; 2005.
6. Guyton H. *Tratado de Fisiología Médica.* 10º ed. Mexico: McGraw-Hill/Interamericana; 2001.
7. Laurent G, Kishore BK, Tulkens PM. Aminoglycoside-induced renal phospholipidosis and nephrotoxicity. *Biochem.Pharmacol.* 1990 Dec 1;40(11):2383–92.
8. Havasi A, Borkan SC. Apoptosis and acute kidney injury. *Kidney Int.* 2011 Jul;80(1):29–40.
9. Burton GJ, Jauniaux E. Oxidative stress. *Best Pract Res ClinObstet Gynaecol.* 2011 Jun;25(3):287–99.
10. Halliwell B. Antioxidant defence mechanisms: from the beginning to the end (of the beginning). *Free Radic. Res.* 1999 Oct;31(4):261–72.
11. CALAM Standards of Veterinary Care, 2007, available from: <http://calam-acmal.org/pdfs/StandardsVetCare.pdf>
12. AVMA Guidelines on Euthanasia, 2007. American Veterinary Medical Association. Available from: <https://www.avma.org/KB/Policies/Documents/euthanasia.pdf>
13. Kellum JA, Venkataraman. Defining acute renal failure: The RIFLE criteria. *Journal of Intensive Care Medicine* [Internet]. 2007;22(4). Available from: <http://www.smjr.org/files/nephro/RIFLE.PDF>
14. RinaldoBellomo, Claudio Ronco, John A Kellum, Ravindra L Mehta, Paul Palevsky and the ADQI workgroup. Acute renal failure – definition, outcome measures, animal models, fluid therapy and information technology needs: the Second International Consensus Conference of the Acute Dialysis Quality Initiative (ADQI) Group. *Critical Care* 2004, 8:R204-R212 (DOI 10.1186/cc2872).
15. Abosaif NY, Tolba YA, Heap M, Russell J, El NahasAM. The outcome of acute renal failure in the intensive care unit according to RIFLE: model application, sensitivity, and predictability. *Am. J. Kidney Dis.* 2005 Dec;46(6):1038–48.
16. Jennette JC, Heptinstall RH. *Heptinstall's pathology of the kidney.* Lippincott Williams & Wilkins; 2007.
17. Houghton DC, Plamp CE, DeFehr JM, Bennett WM, Porter G, Gilbert D. Gentamicin and tobramycin nephrotoxicity. A morphologic and functional comparison in the rat. *Am J Pathol.* 1978 Oct;93(1):137–52.
18. Martin RK. Acute kidney injury: advances in definition, pathophysiology, and diagnosis. *AACN AdvCrit Care.* 2010 Dec;21(4):350–6.
19. Lattanzio MR, Kopyt NP. Acute kidney injury: new concepts in definition, diagnosis, pathophysiology, and treatment. *J Am Osteopath Assoc.* 2009 Jan;109(1):13–9.
20. Stojiljkovic N, Stojiljkovic M, Randjelovic P, Veljkovic S, Mihailovic D. Cytoprotective effect of vitamin C against gentamicin-induced acute kidney injury in rats. *Exp. Toxicol. Pathol.* [Internet]. 2010 Jul 7 [cited 2011 Nov 17]; Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20619622>
21. Kadkhodae M, Khastar H, Faghihi M, Ghaznavi R, Zahmatkesh M. Effects of co- supplementation of vitamins E and C on gentamicin-induced nephrotoxicity in rat. *Exp Physiol.* 2005 Jul;90(4):571-6. Epub,2005 Mar 15.

22. Selby NM, Shaw S, Woodier N, Fluck RJ, Kolhe NV. Gentamicin-associated acute kidney injury. *QJM*. 2009 Diciembre;102(12):873–880.
23. Waikar SS, Bonventre JV. Biomarkers for the diagnosis of acute kidney injury. *Curr Opin Nephrol Hypertens*. 2007 Nov;16(6):557–64.
24. Skálová S. The diagnostic role of urinary N-acetyl-beta-D-glucosaminidase (NAG) activity in the detection of renal tubular impairment. *Acta Medica (Hradec Kralove)*. 2005;48(2):75–80.
25. Mohammed Em, Guy L. Apoptosis in Renal Proximal Tubules of Rats Treated with Low Doses of Aminoglycosides. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. Vol. 44, No. 3(Mar. 2000);p. 665–675.
26. Wiland P, Szechciński J. Proximal tubule damage in patients treated with gentamicin or amikacin. *Pol J Pharmacol*. 2003 Aug;55(4):631–7.
27. Hoste EAJ, Clermont G, Kersten A, Venkataraman R, Angus DC, De Bacquer D, et al. RIFLE criteria for acute kidney injury are associated with hospital mortality in critically ill patients: a cohort analysis. *Crit Care*. 2006;10(3):R73.
28. Tulkens PM. Nephrotoxicity of aminoglycoside antibiotics. *Toxicol Lett*. 1989 Mar;46(1-3):107–23.
29. Carr AC, Frei B. Toward a new recommended dietary allowance for vitamin C based on antioxidant and health effects in humans. *The American Journal of Clinical Nutrition*. 1999 Jun 1;69(6):1086–1107.
30. Padayatty SJ, Sun H, Wang Y, Riordan HD, Hewitt SM, Katz A, et al. Vitamin C Pharmacokinetics: Implications for Oral and Intravenous Use. *Annals of Internal Medicine*. 2004 Abril;140(7):533–537.