



UAB
Universitat Autònoma de Barcelona
Departament de Cirurgia

**Valoración del daño renal producido
durante la nefrectomía parcial
abierta, condicionado según el tipo
de isquemia y sexo, en cerdos
monorrenos.**

Autor: Luis A. Castro Sáder

Director: Carles X. Raventós Busquets

Co-Director: Juan Morote Robles

Trabajo de investigación para optar a 12 créditos
correspondientes del programa de Doctorado de Cirugía
Convocatoria Septiembre 2012

CERTIFICADO DEL DIRECTOR DEL TRABAJO DE INVESTIGACIÓN

Dr. Carles X. Raventós Busquets, Doctor en Cirugía por la Universidad Autónoma de Barcelona, y médico adjunto al Servicio de Urología del Hospital Universitario Vall d'Hebron-Barcelona,

Dr. Juan Morote Robles, Profesor Titular del Departamento de Cirugía de la Universidad Autónoma de Barcelona y Jefe del Servicio de Urología del Hospital Universitario Vall d'Hebron-Barcelona,

Hacemos Constar:

que el trabajo titulado **Valoración del daño renal producido durante la nefrectomía parcial abierta, condicionado según el tipo de isquemia y sexo, en cerdos monorrenos**, ha sido realizado bajo nuestra dirección por el licenciado **Luis Augusto Castro Sáder**, encontrándose en condiciones de poder ser presentado como trabajo de investigación de 12 créditos, dentro del programa de doctorado en Cirugía (curso 2011-2012), en la convocatoria de **Septiembre**.

Dr. Carles X. Raventós Busquets

Dr. Juan Morote Robles

Barcelona, 5 de Septiembre de 2012

AGRADECIMIENTOS.

En primer lugar a mis padres, por darme la vida e inculcarme que no existen imposibles, y que con el esfuerzo y la dedicación se logran todas las metas.

A mi esposa, por compartir su vida conmigo, y ser un apoyo fundamental para continuar con el proyecto en los momentos difíciles.

Al Dr. Carles Raventós Busquets, quien me animó a llevar adelante este proyecto, fomentando mi interés por la cirugía renal.

Al Dr. Juan Morote Robles, por su ejemplo y dedicación en el campo de la investigación clínica-experimental.

A quienes fueron mis compañeros residentes del Servicio de Urología, y en especial al Dr. Juan Bastarós Hernández, amigo y colaborador fundamental para poder realizar y culminar prácticamente todas las cirugías.

A las Dra. Ines de Torres y Dra. Maria Semidey, por su colaboración en el procesamiento y el análisis de las muestras para el estudio anatomo-patológico.

Al todo el personal del Estabulario del Institut de Recerca Vall d'Hebron, y en especial a Marta Rosal, Marielle Esteves y Alex Rojo, veterinarios quienes participaron en todos y cada uno de los procedimientos quirúrgicos, el seguimiento evolutivo y la toma de muestras de los animales.

INDICE.

1. INTRODUCCIÓN.....	6
2. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA.....	9
2.1 Evolución histórica de la cirugía renal.....	9
2.2 Fisiopatología de la isquemia renal.....	29
2.3 Tipo de isquemia y daño renal.....	38
2.4 La influencia del género en el daño renal.....	44
3. HIPÓTESIS.....	51
4. OBJETIVOS.....	52
5. MATERIALES Y MÉTODOS.....	53
5.1 Diseño experimental.....	53
5.2 Recogida de muestras.....	54
5.3 Análisis de las muestras.....	55
5.4 Aspectos éticos.....	57
5.5 Justificación del modelo animal.....	58
5.6 Protocolo quirúrgico y anestésico.....	59
5.7 Limitaciones del experimento.....	65
5.8 Protocolo de supervisión.....	66
5.9 Duración del experimento.....	66
5.10 Finalización del experimento.....	66
6. RESULTADOS.....	67
6.1 Muestra, cirugía y evolución postoperatoria.....	67
6.2 Resultados bioquímicos.....	69
6.3 Resultados anatomo-patológicos.....	71

7. DISCUSIÓN.....	76
8. CONCLUSIONES.....	79
9. BIBLIOGRAFÍA.....	80
10. ANEXOS.....	93

1. INTRODUCCIÓN.

La cirugía, y específicamente la nefrectomía, ha sido la piedra angular del tratamiento de los tumores renales. Han pasado más de 140 años desde la primera nefrectomía planificada, durante los cuales se ha ganado en conocimiento de las funciones y enfermedades renales, mejorando en gran medida las técnicas de la cirugía renal. La nefrectomía radical fue la técnica quirúrgica de elección, dado que la mayoría de los pacientes tenían un riñón contralateral sano. Inicialmente, respondió al tratamiento de fístulas uretero-vaginales y enfermedad litiásica reno-ureteral; posteriormente se realizaron en pacientes con tumores renales.

La posibilidad de extraer el riñón a los humanos, ha seguido décadas de investigación y estudio de los procesos fisiológicos relacionados con esta cirugía. Gracias a la experiencia quirúrgica acumulada por la comunidad científica, el conocimiento de los patrones biológicos moleculares tumorales, los avances desde el punto de vista del diagnóstico imagenológico, y el desarrollo de nuevas técnicas y materiales quirúrgicos, la nefrectomía radical tiende a decrecer en favor de las técnicas ahorradoras de nefronas (nefrectomías parciales, tumorectomías, ablaciones tumorales mediante crioterapia, radiofrecuencia o HIFU), incluso en pacientes con riñones contralaterales completamente normales, ofreciendo un correcto tratamiento de las patologías y brindando la posibilidad de preservar las unidades renales en buen estado. Actualmente las

nefrectomías totales se realizan principalmente en grandes tumores y en casos de donación de órganos; esta última representará probablemente en el futuro, la principal indicación de esta cirugía.

Tradicionalmente la técnica para realizar una resección parcial de una lesión renal sólida, ha sido previa inducción de isquemia renal (normotérmica o caliente –en adelante caliente-, o hipotérmica o fría –en adelante fría-) mediante clampaje vascular total (arterio-venoso) o arterial simple, con un tiempo recomendado de 30 minutos, el cual garantiza tras la reperusión un mínimo daño de las células renales, pero condicionando al cirujano estrés quirúrgico por tratarse de una cirugía contrareloj, con riesgo de producirse complicaciones intraoperatorias y post-operatorias inmediatas, pudiendo esto acarrear la pérdida de la unidad renal.

En la bibliografía consultada, se compara el grado de lesión renal producido durante la nefrectomía parcial, en función del tipo de isquemia y del tiempo de duración de la misma, evidenciando que con la isquemia fría el daño renal producido es menor, valorándose en la mayoría de los casos mediante marcadores bioquímicos de daño renal (urea y creatinina) y las alteraciones histopatológicas producidas.

La evolución que en los últimos años han tenido las diferentes técnicas quirúrgicas desarrolladas para mejorar la morbilidad asociada a la cirugía renal, y favorecer una pronta y correcta recuperación funcional post-operatoria, es en parte la razón por la

cual ha surgido la interrogante para realizar este trabajo, así como también, si el hecho de modificar el tipo de isquemia utilizada, y/o el género de los animales, condicionan diferencias favorables o desfavorables para la realización de la cirugía ahorradora de nefronas.

2. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA.

2.1 Evolución histórica de la cirugía renal.

Es de destacar el hecho evolutivo que ha tenido la cirugía renal de masas sólidas, partiendo en sus inicios de la exéresis total del riñón afectado, con grandes heridas quirúrgicas, prolongadas cirugías, y numerosas complicaciones, llegando en la actualidad a la práctica de cirugías mínimamente invasivas (laparoscopia, retroperitoneoscopia, laparoscopia mano-asistida, laparoscópica robótica, laparoscopia por puerto único, laparoscopia a través de orificios naturales), practicándose resecciones únicamente de las lesiones tumorales y de los márgenes oncológicos de seguridad (tumorectomías y/o nefrectomías parciales), conocidas como Cirugía Ahorradora de Nefronas (CAN), incluso técnicas de destrucción tumoral por vía percutánea guiadas por imágenes (radiofrecuencia, crioablación, HIFU).

Cómo y por qué la cirugía renal ha evolucionado, desde sus inicios hasta la actualidad, responde a una secuencia de importantes eventos en el tiempo, que han sentado los precedentes de las actuales técnicas quirúrgicas, por lo cual es necesario realizar una revisión histórica.

2.1.1 La Primera Nefrectomía.

Dentro de los primeros cirujanos-investigadores podemos mencionar a Hendrik von Roonhuysen (1672), Giuseppe Zambecarius (1678), y Stephan Blanchard (1698), quienes

experimentaron con perros a los que realizaban nefrectomías unilaterales, evidenciando que se producía una hipertrofia compensadora del riñón contralateral, y que los animales podían sobrevivir con un solo riñón.¹

La historia de la cirugía renal en humanos tuvo un comienzo inesperado. En muchas oportunidades cuando se analizaban las piezas quirúrgicas extirpadas, los cirujanos encontraban de forma accidental riñones o tejido renal conjuntamente con los órganos extraídos.² Un riñón (Erastus Wolcott, cirujano americano en 1861) y otro (Otto Spiegelberg, ginecólogo alemán en 1867), fueron extraídos por error durante cirugías de quistes hepáticos.³

En 1868, el cirujano canadiense Sir William Hingston (figura 1), del Hospital Hôtel Dieu de Montreal, realizó una nefrectomía la cual no fue anunciada debido al fallo de la cirugía, pues el paciente murió en el quirófano inmediatamente después de la extracción del riñón.⁴

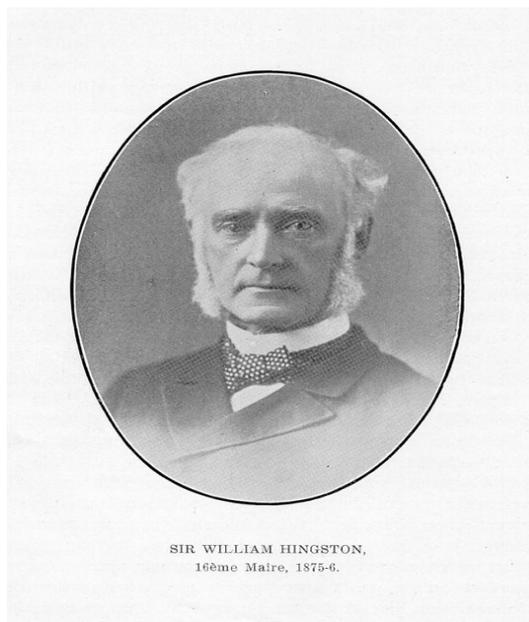


fig. 1 sir William Hingston (1829-1907)

Gustav Simon (figura 2), cirujano alemán, profesor y director de las clínicas de cirugía de la Universidad de Rostock y Universidad de Heidelberg, era experto en el tratamiento quirúrgico de las fístulas uretero-vaginales, y fue pionero de las cirugías de extracción renal. En 1869, trató una paciente con una fístula uretero-vaginal, complicación de una histero-ooforo-salpinguectomía; tras varios intentos del cierre de la fístula, realizó con éxito una nefrectomía izquierda mediante anestesia con cloroformo, abordaje lumbar y ligadura del pedículo renal con seda. El postoperatorio se complicó con infección de la herida, neumonía y erisipela, egresando la paciente del hospital a los 2 meses de realizada la cirugía.^{1,3} Un año después, realizó su primera nefrectomía parcial por hidronefrósis.¹



fig. 2 Gustav Simon (1824-1876)

Simon estableció 2 factores que influenciaron la historia de la cirugía renal: el riñón se podía extraer con seguridad del cuerpo humano, y el paciente vivía con solo un riñón.¹

2.1.2 La nefrectomía a finales del siglo XIX.

Estas observaciones estimularon la realización de nefrectomías, aunque con tímida aceptación, inicialmente por la alta tasa de mortalidad peri-operatoria 50%, siendo las infecciones los problemas más frecuentes en el post-operatorio, conocidas en esa época como gangrena y sepsis hospitalaria. Simon realizó su segunda nefrectomía en 1871, muriendo el paciente a los 31 días de la operación.⁵

Durante el último cuarto del siglo XIX, Sir Joseph Lister (figura 3), del departamento de cirugía del Hospital Universitario King's College en Londres, inició el uso de los antisépticos; Lister proponía realizar previamente a la cirugía, el lavado de manos y la desinfección del instrumental quirúrgico con ácido carbólico, con la consecuente reducción de la mortalidad peri-operatoria.⁶

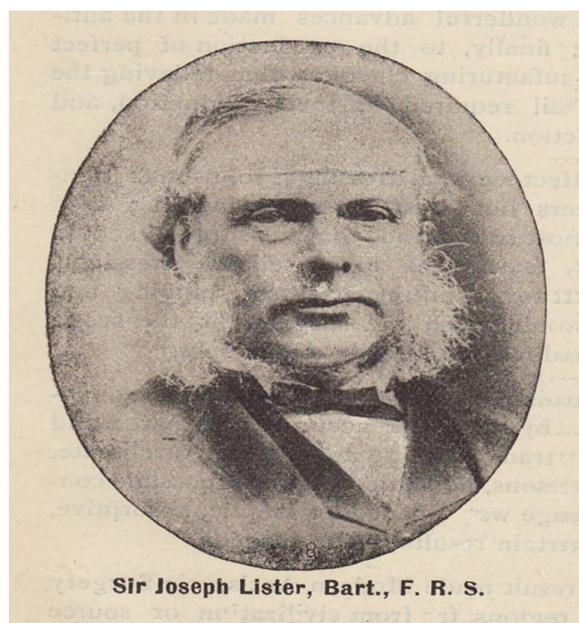


fig. 3 Joseph Lister (1827-1912)

Johann von Mikulicz-Radecki, de la clínica quirúrgica de la Universidad Jagiellonian, introduce en 1885 los guantes quirúrgicos de algodón, y las mascarillas estériles en 1896.⁷ El año 1886 se considera como el comienzo de la asepsia. Ernst von Bergmann, cirujano de la Universidad de Berlín, fue la primera persona en realizar la esterilización con vapor.⁸ William Stewart Halsted, del Hospital Universitario John Hopkins en Baltimore, propone en 1889 reemplazar los guantes de algodón por guantes de caucho.⁹

Simultáneamente, se adquirían más conocimientos acerca de la anatomía, y las técnicas quirúrgicas se perfeccionaban. En 1895, Dimitrie Gerota (figura 4), anatomista y urólogo rumano, describe la anatomía topográfica del riñón y sus fascias.³



fig. 4 Dimitrie Gerota (1867-1939)

También se puede considerar este período, de gran turbulencia en el desarrollo y perfeccionamiento del instrumental quirúrgico. Los instrumentos propuestos y mejorados por Jules-Émile Péan, Emil

Theodor Kocher, Jean Guyon, David Satinski, y otros, fueron de mucha importancia.³ Lo que todavía constituía un problema, era el sangrado procedente del parénquima, el cual hasta ese momento era controlado mediante cauterización con hierro caliente. La popularización de los clamps hemostáticos, ayudó a controlar el sangrado de los vasos sanguíneos. En 1896, Arsène Jacques d'Arsonval fue el primer cirujano en utilizar la electrocoagulación diatérmica.¹⁰

A finales del siglo XIX, los cirujanos estaban armados de los revolucionarios nuevos métodos de esterilización y antisepsis, importantes conocimientos anatómicos, el desarrollo y perfeccionamiento de los materiales e instrumental quirúrgico, con lo cual disminuyeron las tasas de mortalidad y complicaciones, llevando a una expansión estable de la cirugía renal. Se habían realizado más de 300 nefrectomías entre Europa y Estados Unidos, de las cuales 55 correspondían a pacientes con tumores renales.⁵ El pensamiento científico se introdujo en la cirugía, llevando a realizar nuevas operaciones basadas en los principios anatómo-fisiológicos, para preservar y reconstruir el riñón.

2.1.3 Nefrectomía Parcial o Cirugía Ahorradora de Nefronas.

En 1883, sir Thomas Spencer Wells (figura 5), cirujano, miembro y presidente del Real Colegio de Cirujanos de Inglaterra, accidentalmente extirpó más de un tercio del polo inferior del riñón izquierdo, durante la enucleación de un fibrolipoma perirrenal.³ A

Vincenz Czerny (figura 6), cirujano austro-húngaro, quien sucedió a Simon en la Universidad de Heidelberg, se le acredita ser el primer cirujano que de manera deliberada realizara en 1887, una resección parcial renal por un angiosarcoma.²



fig. 5 sir Thomas Spencer Wells (1818-1897)



fig. 6 Vincenz Czerny (1842-1916)

Desde 1879 hasta finales de siglo, Tillman, Tuffier, Bardenheuer y Paoli, entre otros, realizaron numerosos estudios experimentales con la finalidad de establecer la posibilidad de realizar resecciones parciales para las enfermedades localizadas del riñón; se investigaron los mecanismos de reparación renal, la hipertrofia compensadora, la función renal, los cambios en el organismo, y la cantidad de tejido renal que era necesaria para vivir después de la resección parcial.⁵ Los cirujanos entonces comenzaron a realizar resecciones parciales de riñón en varios tipos de casos clínicos: Kummell (1890),

Bardenheuer (1891) y Block (1895), realizaron nefrectomías parciales en tumores, pero los pacientes murieron a causa de atrofias renales, shock y uremia.⁵ Estas operaciones pronto perdieron fuerza y fueron abandonadas, debido al miedo a las hemorragias operatorias, el sangrado tardío postoperatorio, la frecuente aparición de fístulas urinarias persistentes, y los pobres resultados para tratar las neoplasias y tuberculosis renal.³

Fue por ello que durante este período, la nefrectomía mediante abordaje lumbar, se convirtió en la cirugía preferida para el tratamiento de las enfermedades benignas y malignas del riñón.

2.1.4 Abordaje Retroperitoneal o Transperitoneal.

Inicialmente y debido a la alta tasa de complicaciones e infecciones por la vía transperitoneal (peritonitis), a finales del siglo XIX y comienzos del siglo XX, era preferido el abordaje retroperitoneal. La introducción de los antisépticos y el perfeccionamiento de las técnicas quirúrgicas, aumentó en los cirujanos el interés en el abordaje transperitoneal. Para ese momento la principal ventaja de esta vía, era que permitía la posibilidad de valorar el segundo riñón.³

En 1878, Emil Theodor Kocher, de la clínica quirúrgica de la Universidad de Berna, realizó una nefrectomía por abordaje transperitoneal, abriendo el peritoneo a través de una incisión media.³ En 1913, Atle Berg, cirujano noruego, modifica la técnica de Kocher, proponiendo utilizar una incisión lateral y movilizar el colon

para visualizar el pedículo renal, lo cual aumentaba la seguridad del procedimiento; Berg es considerado como el primer cirujano en extraer un trombo neoplásico de la vena cava inferior en un paciente con tumor renal.¹¹

2.1.5 La nefrectomía en el siglo XX.

La primera mitad del siglo XX, constituyó un período sin descanso en el desarrollo y perfeccionamiento de los materiales quirúrgicos, y dentro de ellos las suturas. En 1906, Franz Kuhn, cirujano alemán, elaboró un método de esterilización para el catgut crómico, que fue el primer material de sutura quirúrgica de la historia, el cual se hacía de intestino de carnero. Posteriormente durante los años 30, se desarrollan las suturas sintéticas y no absorbibles.¹²

A pesar del desarrollo y perfeccionamiento del instrumental quirúrgico, a comienzos de siglo continuaba el problema de la pérdida hemática durante la extracción renal, la cual causaba complicaciones mortales. Con el desarrollo de la hemoterapia impulsada por Karl Landsteiner, quien en 1901 separa los grupos sanguíneos, y por Ludwik Hirszfeld y Emil von Dungern, quienes en 1910 revelan la herencia de grupos, los cirujanos comienzan a realizar transfusiones en función de la compatibilidad, siendo el grupo O aceptado universalmente por cualquier otro grupo. En 1915, Richard Lewinsohn anuncia la posibilidad de conservar los concentrados hemáticos con

citrato de sodio, lo cual convirtió las donaciones sanguíneas en simples procedimientos que salvaban vidas.¹³

El uso del éter, y el perfeccionamiento de los equipos de anestesia endotraqueal, aumentaron la seguridad de las cirugías. En 1928, Alexander Fleming (figura 7) descubre la penicilina, lo cual constituyó el evento médico más importante del siglo XX.¹⁴

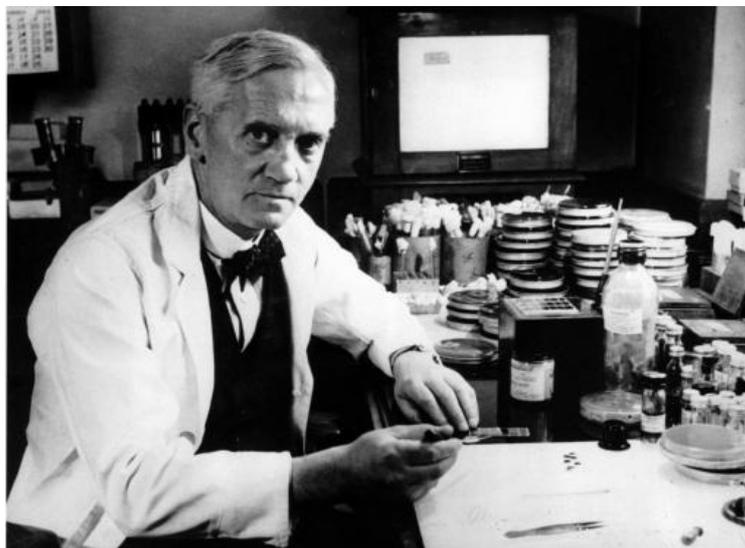


fig.7 Alexander Fleming (1881-1955)

Comenzó la nueva era de la cirugía mundial, incrementando a su vez significativamente el número de nefrectomías que se realizaban, lo cual condujo a la realización de numerosas investigaciones, descubrimientos e innovaciones. Las cirugías de conservación del parénquima renal o nefrectomías parciales, se realizaban principalmente en patologías localizadas y no tumorales (quistes, hidronefrosis o pionefrosis, y las litiasis), mientras que las

nefrectomías totales se continuaban realizando para el tratamiento de los tumores.

En 1932, Paul Rosenstein, del departamento de cirugía del Hospital Judío de Berlín y profesor adjunto de la Universidad de Berlín, realizó una nefrectomía parcial para el tratamiento de un tumor renal, y planteó que esta técnica debía realizarse en los casos en que el riñón contralateral no pudiera mantener una adecuada función renal después de una nefrectomía total.⁵ El entusiasmo de esta técnica disminuyó por el hecho de observar en las autopsias y en las biopsias de nefrectomías, implantaciones tumorales en la grasa alrededor del riñón, y debido a que la mayoría de tumores de gran tamaño, esto representaba un riesgo para realizar esta cirugía.⁵ En este sentido, Raymond Grégoire (figura 8), reportó en 1903 la primera nefrectomía radical, extrayendo conjuntamente el riñón con la grasa perirrenal, la glándula adrenal y los ganglios linfáticos adyacentes.¹⁵

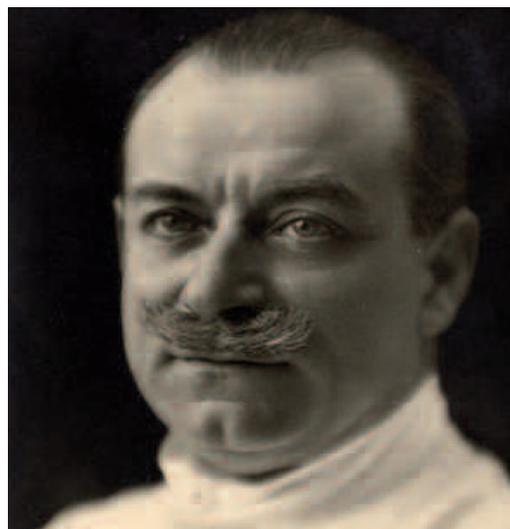


fig. 8 Raymond Grégoire (1876-1942)

Albert Goldstein y Benjamin Abeshouse, reportan en 1937, una serie de 296 casos de nefrectomías parciales, concluyendo que los tumores de pequeño o moderado tamaño, localizados en los polos, podían ser extraídos mediante resección parcial, pero contraindicado si el riñón contralateral estaba sano.¹⁶ Carl Semb (1949)¹⁷ y André Dufour (1951)¹⁸, añaden otros casos con iguales resultados, sin que estas cirugías implicaran un mayor riesgo de sangrado, ni de aparición de fístulas urinarias.

Vincent Vermooten (figura 9), postuló en 1950 el razonamiento científico de la nefrectomía parcial: *“Existen ciertas situaciones en que para el bienestar del paciente, es imprudente realizar una nefrectomía, incluso ante un crecimiento maligno que envuelva al riñón. Esto puede ocurrir cuando la función renal es tal, que la nefrectomía realizada por un carcinoma resultaría en el desarrollo de uremia. Si no existe evidencia de metástasis, y la tumoración envuelve solo la corteza del riñón, la resección única de la lesión es incuestionable. La pregunta es si este procedimiento es siempre justificable cuando el riñón contralateral es normal. Me inclino a pensar que en ciertas circunstancias puede serlo.”*¹⁹



fig. 9 Vincent Vermooten (1897-1969)

Vermooten se basó en los estudios patológicos realizados por Cahill (1948) y Beare - McDonald (1949), mostrando que el carcinoma de células renales se desarrolla de la corteza, está rodeado de una capsula, presenta un crecimiento expansivo, raramente invade las estructuras de alrededor, y se disemina principalmente por vía hematológica; el análisis microscópico del tejido adyacente a los tumores, reveló que las lesiones podían researse con un margen de seguridad de 1cm, sin miedo a la aparición de recurrencias locales.¹⁹ Las autopsias practicadas por Bell (1938) revelaban pocas metástasis, reportando 7% en tumores <5cm y 83% en mayores de 10cm.²⁰ A la vez, otros reportaron casos individuales de nefrectomías parciales en tumores unilaterales, con riñón contralateral sano.²¹

Pocos prestaron atención a estos señalamientos; muchos cirujanos encontraban el procedimiento técnicamente complicado y con resultados oncológicos dudosos, argumentando que si las lesiones pequeñas podían diseminarse, estaba indicado realizar una nefrectomía total, especialmente en pacientes con 2 riñones sanos, reservándose las cirugías parciales para casos de tumores en riñón único, insuficiencia renal, o tumores bilaterales.³

Los resultados publicados en 1963 por Charles Robson de la Universidad de Toronto, mostraron un aumento en la supervivencia a 10 años, en los pacientes tratados mediante nefrectomía radical.²² La mayoría de los pacientes se presentaban con grandes tumores sintomáticos o localmente avanzados, por lo cual la nefrectomía

radical se estableció como el tratamiento de elección, retrasando por más tiempo la aceptación de la cirugía ahorradora de nefrónas.

Dentro de un clima de aceptación de la cirugía radical como tratamiento de elección, a comienzos de los sesenta, se continuaba trabajando en la cirugía ahorradora de nefrónas. Geyer y Poutasse (1962), realizan estudios angiográficos, en relación al aporte sanguíneo segmentario del riñón.²³ En 1960, Kerr²⁴ y Klotz²⁵, introducen la hipotermia renal, la cual prevenía el daño isquémico, permitiendo prolongar el tiempo quirúrgico y realizar mejores reconstrucciones del parénquima renal en un campo quirúrgico sin sangre.

Gracias a los avances en la técnica quirúrgica, y a las experiencias previas favorables, la nefrectomía parcial comenzó a ganar adeptos tanto en Estados Unidos (Novick, Smith, Kerr, Grabstald, Lytton, Palmer, Zincke), como en Europa (Fleming, Semb, Marberger, Walquist, Wickham, Rocha-Brito, Puigvert, Moll). En 1975, Wickham revisa la literatura (1954-1974), reportando en 37 pacientes, una tasa de supervivencia a 5 años del 72%, posterior a nefrectomías parciales en riñones únicos o en tumores renales bilaterales.²⁶ Las tasas de recurrencias locales reportadas eran bajas, reflejando el hecho de que los pacientes tratados de esta manera presentaban una supervivencia global similar a aquellos pacientes tratados mediante nefrectomía radical. El escenario ahora expandía

las indicaciones para las nefrectomías parciales, e incluía aquellos pacientes con riñones contralaterales normales.

Puigvert (1976) (figura 10), Novick (1977), Marberger (1981) y otros, se cuestionaban la conveniencia de extraer un riñón sano en casi toda su totalidad, tal y como lo había postulado Vermooten. Puigvert publicó 21 casos de nefrectomías parciales en niños con tumores quísticos²⁷, Novick 4 casos de nefrectomías parciales electivas²⁸, y Marberger reporta en una serie multi-institucional de nefrectomías parciales, incluyendo 3 casos con riñones contralaterales normales.²⁹

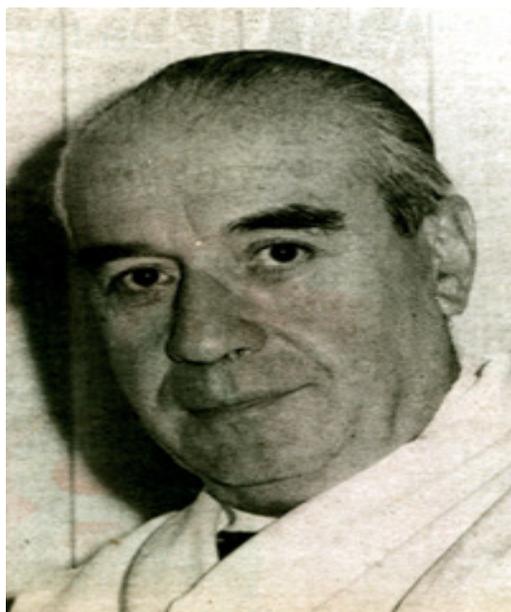


fig. 10 Antoni Puigvert (1905-1990)

En los ochenta, comenzó la era de la cirugía ahorradora de nefrónas de manera electiva. Ahora los urólogos tenían experiencia realizando nefrectomías parciales, y por otra parte, el desarrollo y mejoría de las pruebas de imagen (ecografías, tomografías y RNM), permitían diagnosticar tumores renales de pequeño tamaño y

asintomáticos. Licht y Novick publican en 1993, la primera gran serie de nefrectomías parciales, reportando resultados favorables en 241 casos publicados entre 1967-1991, con riñón contralateral completamente sano; aunque el tamaño tumoral medio era pequeño (3,5cm), y el seguimiento corto (3 años), solo reportaron 2 recurrencias locales, con un 95% de supervivencia.³⁰ Advirtieron que la nefrectomía parcial electiva, era apropiada para el tratamiento de tumores pequeños, periféricos y exofíticos. Herr (1999)³¹ y Fergany (2000)³², publican seguimientos de 10 años en mas de 100 pacientes, con casi 100% de supervivencia y rara aparición de recurrencias locales. El gran aumento de las cirugías ahorradoras de nefronas y el éxito de la mismas, fue debido a que los tumores eran detectados en su mayoría precozmente (<4cm diámetro), y los pacientes presentan una mejor función renal global con 2 riñones.

El perfeccionamiento de la técnica quirúrgica, la electrocoagulación, los materiales hemostáticos, y el empleo del ultrasonido intraoperatorio, permitieron realizar resecciones más precisas, y con mejores reconstrucciones renales, ampliando las indicaciones de la cirugía hasta lesiones de 7cm de diámetro, y/o de localización central. A partir de entonces, la cirugía parcial abierta se convirtió en un procedimiento habitual, realizado en casi la mitad del total de las cirugías por tumor renal.

2.1.6 La nefrectomía del siglo XXI.

Durante los primeros años del siglo, tanto la nefrectomía total como la parcial, han seguido una constante evolución. Las cirugías mínimamente invasivas (laparoscopia, retroperitoneoscopia, laparoscopia mano-asistida, laparoscopia robótica, laparoscopia por puerto único, cirugía endoscópica a través de orificios naturales), se han convertido en las técnicas quirúrgicas preferidas para el tratamiento de las patologías quirúrgicas y los tumores renales, en detrimento de la cirugía abierta, partiendo siempre de los principios y las bases establecidas durante el siglo anterior.

Cuando se comparan con las cirugías abiertas, las técnicas mínimamente invasivas no presentan diferencias en cuanto a los resultados oncológicos, y no aumentan la morbi-mortalidad quirúrgica. Por el contrario, presentan menor pérdida hemática intraoperatoria, disminuyen los requerimientos analgésicos postoperatorios, y acortan el período de estancia hospitalaria y el tiempo necesario para la reincorporación a las actividades de la vida diaria. Entre las desventajas que presentan, podemos señalar la elevación de costos por el material quirúrgico requerido, la dificultad técnica de los procedimientos y la necesidad de los cirujanos de realizar curvas de aprendizaje para ganar experiencia.

Durante los primeros años que comenzó la laparoscopia, la nefrectomía parecía un procedimiento imposible de realizar, principalmente debido al tamaño renal y las dificultades para

extraerlo de la cavidad abdominal a través de los puertos. El problema se solucionó realizando incisiones de mini-laparotomías en zonas mejor toleradas, y mediante la utilización del embolsamiento de las piezas previa a la extracción.³³ En la actualidad, la nefrectomía laparoscópica esta prácticamente establecida como técnica quirúrgica de elección; se ha evolucionado el instrumental quirúrgico, siendo estos cada vez mas pequeños con el propósito de minimizar al máximo las cicatrices.

El volumen del espacio retroperitoneal, fue el principal obstáculo para la vía retroperitoneoscópica. Operar dentro de esta pequeña cavidad con el instrumental quirúrgico era complicado y peligroso. Gracias a un balón hinchable, se puede disecar el espacio retroperitoneal, aumentando el tamaño de la cavidad posibilitando la realización de la cirugía.^{34,35} La cirugía retroperitoneoscópica ha tenido su principal utilización en para el tratamiento de pequeños riñones y tumores de localización inferior y posterior.

Los estudios que comparan la nefrectomía laparoscópica mano-asistida con la nefrectomía abierta, revelan ventajas de la cirugía mínimamente invasiva que prueban su superioridad. Dichas conclusiones son menores cuando se compara con la nefrectomía laparoscópica, en cuanto al curso de la cirugía (duración, pérdida sanguínea, resultados oncológicos, tiempo de isquemia en los casos de cirugías parciales o extracciones renales para donación de órganos), y la evolución postoperatoria (control del dolor,

normalización del tránsito intestinal, días de hospitalización). Clayman, pionero de la nefrectomía laparoscópica, comentó durante el congreso de la Asociación Americana de Urología del año 2000: "una mano es más valiosa que cientos de trocares".

La introducción de los robots como asistentes en los procedimientos quirúrgicos, surgió con el objetivo de aumentar la precisión de los movimientos dentro del campo quirúrgico laparoscópico, y reducir el número de miembros del equipo quirúrgico. Los autores de las primeras publicaciones señalaron que los procedimientos eran seguros, y la duración de la cirugía era similar a la laparoscopia, y en los casos de complicaciones perioperatorias, era necesaria la asistencia humana.³⁶ Hasta los días, numerosas publicaciones que comparan los procedimientos robóticos a los laparoscópicos tradicionales, señalan que los resultados quirúrgicos obtenidos son similares, apuntando únicamente el aspecto económico a favor de los procedimientos laparoscópicos.³⁷⁻⁴⁰

La cirugía laparoscópica a través de puerto único, surge con la intención de mejorar aún más el aspecto cosmético de la cirugía laparoscópica tradicional. Desde 2008, existen publicaciones prometedoras, considerando la técnica segura y practicable.⁴¹ Usualmente, se coloca el puerto con varios canales de trabajo a nivel umbilical, a través de los cuales se introducen los instrumentos usados en la cirugía laparoscópica (con modificaciones en cuanto a su longitud y curvatura), que permiten trabajar desde fuera del campo

con más facilidad. Dado que el objetivo de esta técnica es principalmente cosmético, no ha tenido un gran desarrollo en la nefrectomía total, pues es necesaria realizar una herida de mayor tamaño para extraer el riñón; en cuanto a la nefrectomía parcial, pudiera tener más aceptación.

NOTES, de su acrónimo en inglés "Natural Orifice Transluminal Endoscopic Surgery" (cirugía endoscópica a través de orificios naturales), es actualmente la técnica quirúrgica más avanzada dentro de los procedimientos mínimamente invasivos. Se aprovechan los orificios naturales del cuerpo (en el caso de la nefrectomía, la vagina en la mujer), para acceder a la cavidad abdominal y poder trabajar en ella, e inclusive extraer las piezas resecadas a través de la misma vía, lo cual elimina por completo las cicatrices en la piel, disminuye el dolor de las heridas, y limita la aparición de hernias postoperatorias. Puede considerarse su uso para realizar cirugías abdominales en pacientes obesos, con grandes quemaduras o cicatrices, e infecciones de piel.^{42,43} La primera publicación con el objetivo de realizar una nefrectomía en humanos fue en 2008, cirugía practicada a una mujer de 23 años para el tratamiento de una piodonefrosis secundaria a anulación renal, mediante acceso transvaginal con ayuda de 2 puertos abdominales y extrayéndose el riñón a través de la vagina; el principal inconveniente que reportaron fue la necesidad de utilizar instrumental flexible.⁴⁴ Un año más tarde, se publicó la primera nefrectomía completamente transvaginal.⁴⁵

En resumen, durante el siglo XXI ha prevalecido el desarrollo y perfeccionamiento de las diferentes técnicas de cirugía mínimamente invasivas, con el objetivo de disminuir al máximo las complicaciones peri-operatorias, procurando la rápida recuperación postoperatoria, la reincorporación de los pacientes a sus actividades cotidianas, y conjuntamente con los avances en las investigaciones de biología molecular en cuanto al comportamiento biológico de los tumores, y el perfeccionamiento e implementación de novedosas técnicas de imagen que permiten delimitar con máxima exactitud los márgenes tumorales, mejorar aún más los resultados desde el punto de vista oncológico.

2.2 Fisiopatología de la isquemia renal.

La nefróna (figura 11), que es la unidad funcional renal, está formada por una red de capilares glomerulares, túbulo contorneado proximal y distal, asa de Henle, y túbulo colector, existiendo aproximadamente 2-3 millones entre ambos riñones de un humano adulto.⁴⁶

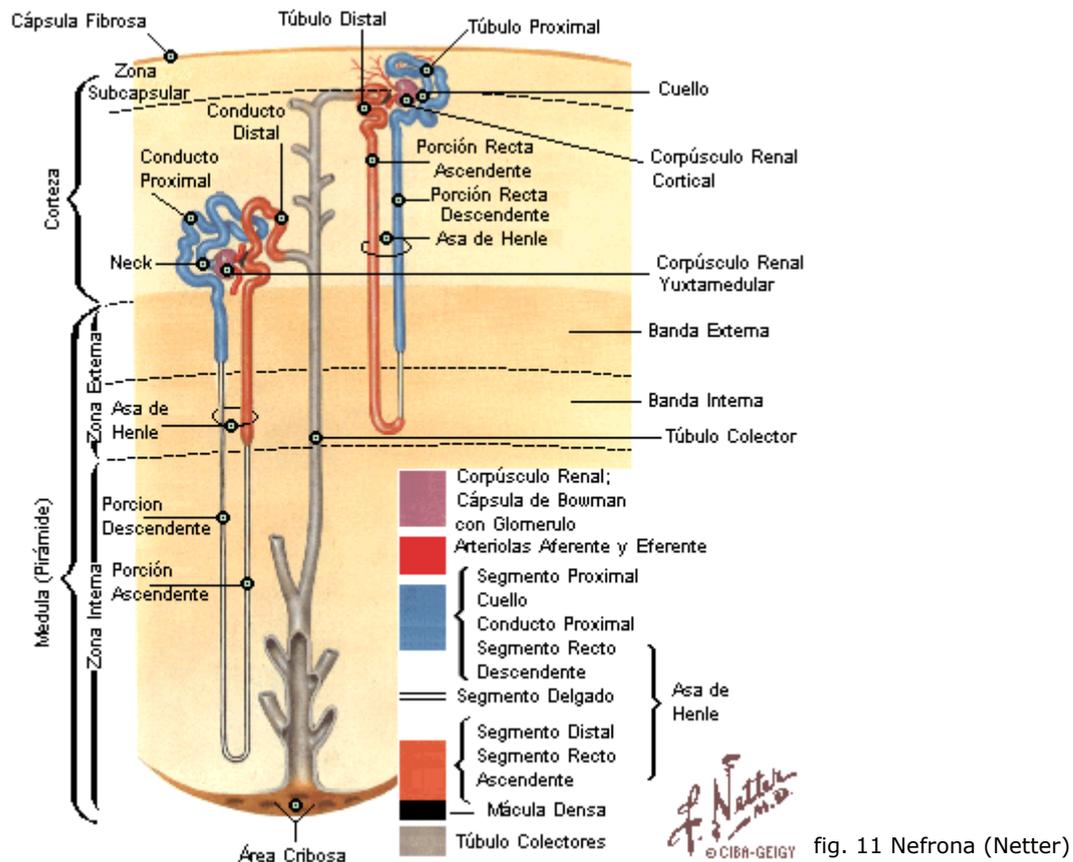


fig. 11 Nefrona (Netter)

Las alteraciones en la función renal se pueden clasificar en función de seis procesos patológicos: 1. alteraciones del flujo sanguíneo renal, 2. alteraciones de la filtración glomerular, 3. adaptación al cambio en el número de nefronas, 4. alteraciones de la función tubular, 5. fallo renal agudo, y 6. obstrucción del flujo urinario,⁴⁶ relacionándose el presente trabajo, con las alteraciones del flujo sanguíneo renal.

2.2.1 Anatomía vascular renal.

La arteria renal se divide en dos ramas antes de entrar en el parénquima renal, anterior y posterior. Estas se subdividen en un número variable de vasos segmentarios, que se continúan con las

arterias interlobares hacia la corteza renal a través de las columnas de Bertin. Las *arterias arcuatas* son la siguiente división a nivel de la unión córtico-medular, las cuales dan origen a las *arterias interlobulares* que se extienden por la superficie cortical (como también se anastomósan directamente al sistema venoso). Las ramas más pequeñas de estas últimas, se traducen en las *arteriolas aferentes*, que llegan a los *capilares glomerulares*, y salen de este a través de las *arteriolas eferentes*. Estas a nivel del glomérulo yuxtamedular, constituyen las *vasa recta*, las cuales participan en el sistema de contra-corriente. Ambas arteriolas, *aferentes-eferentes*, están bajo control neuronal-humoral, para regular la función de filtración (figura 12).⁴⁶

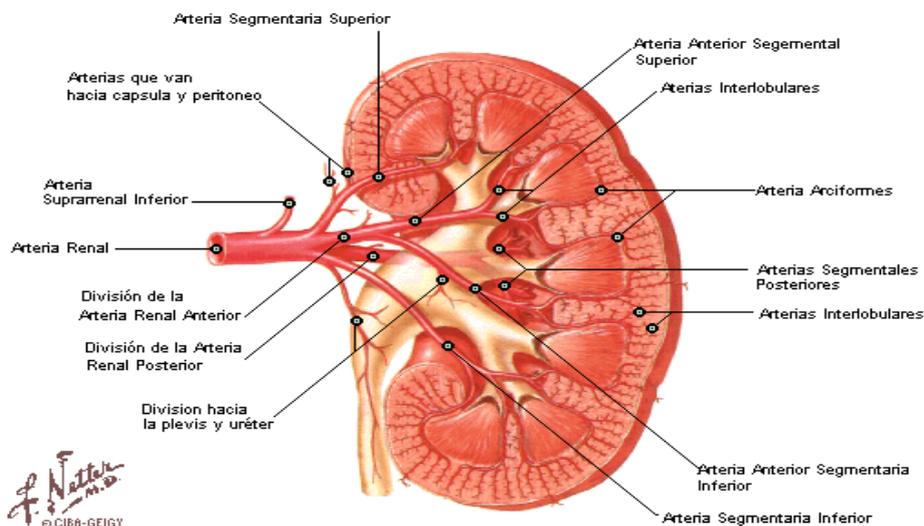


fig. 12 Anatomía vascular arterial renal (Netter).

Diferente al sistema arterial que no tiene vías colaterales, el sistema venoso tiene anastomosis a varios niveles; las venas siguen el curso del sistema arterial, convergiendo a nivel *arcuato-interlobar*, formando troncos que se unen para formar la vena renal.⁴⁶

2.2.2 Fisiopatología de la isquemia renal.

Las actividades metabólicas renales son predominantemente aeróbicas, por lo que el riñón es un órgano muy susceptible a la alteración de su vascularización y al aporte de oxígeno. Casi inmediatamente a la oclusión de la arteria renal, los depósitos intracelulares de alta energía (adenosina trifosfato o ATP) se degradan a nucleótidos monofosfáticos o AMP, y posteriormente a nucleósidos y purinas, para poder mantener las funciones estructurales y metabólicas necesarias en la supervivencia celular.^{47,48} Cuando las fuentes energéticas se agotan, fallan los mecanismos de transporte a nivel de la membrana celular, produciendo influjo intracelular de agua y electrolitos (Na⁺ Ca⁺), lo cual conduce a edema y muerte de la célula (figura 13).⁴⁹

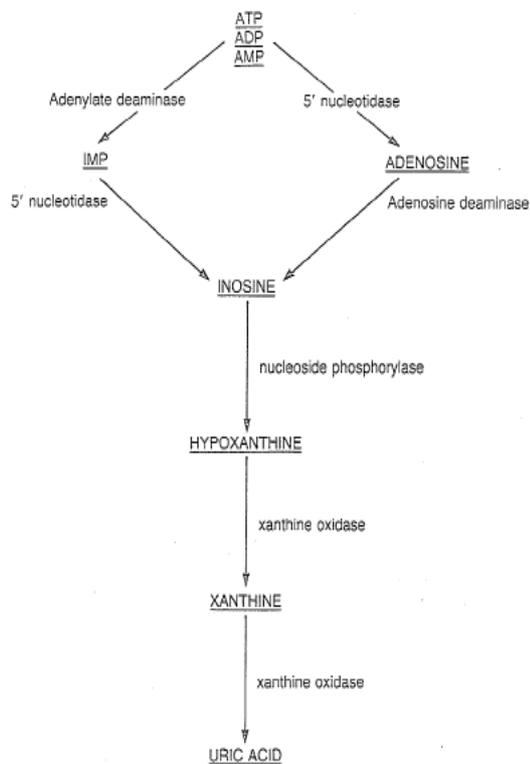


fig. 13 Degradación ATP.

Los mecanismos por los cuales se altera la perfusión renal se pueden dividir en 3 categorías en función de su patogénesis: pre-renal, renal y post-renal. En la azoemia pre-renal, la disminución del flujo sanguíneo se traduce en la activación de mecanismos intrarrenales compensadores, para preservar la función renal; disminuye la presión de la arteriola aferente (preglomerular), aumentando así la producción de Angiotensina II vía el sistema renina-angiotensina. El efecto vasoconstrictor de la Angiotensina II induce un aumento en la resistencia de la arteriola eferente postglomerular y reduce el flujo sanguíneo renal, sin reducir la presión de los capilares glomerulares, ya que esta es mantenida por el aumento de la resistencia postglomerular y así mantener la filtración glomerular. Cuando el mecanismo compensatorio al bajo flujo sanguíneo renal (hipotensión mantenida) se agota, desaparece el efecto miogénico para mantener abierta y disminuir la resistencia de la arteriola aferente, y se atenúa la respuesta de la arteriola eferente a la Angiotensina II, disminuyendo la presión capilar y la filtración glomerular, estableciéndose el fallo de origen pre-renal.⁵⁰ En cuanto al fallo post-renal, durante los procesos de uropatía obstructiva existe una disminución del flujo plasmático glomerular a consecuencia de una excesiva producción de Angiotensina II y de algunas prostaglandinas, y a un aumento de la presión tubular proximal, oponiéndose esta última a la presión glomerular, con lo cual se reduce la diferencia de presión entre el espacio de Bowman y

el glomérulo. Aunque inicialmente tras la obstrucción existe un aumento del flujo sanguíneo renal mediado por el efecto vasodilatador de las prostaglandinas, seguidamente se produce una disminución por el efecto vasoconstrictor preglomerular de la angiotensina, produciendo finalmente la disminución del filtrado a nivel de los capilares glomerulares.⁵⁰

La isquemia juega un papel importante en la patogénesis del daño renal, existiendo 4 mecanismos por los cuales se explica la fisiopatología de la lesión intrarrenal aguda: 1. vasoconstricción renal, 2. obstrucción tubular, 3. fuga del filtrado, y 4. disminución del coeficiente de ultrafiltrado.⁵¹ La vasoconstricción renal disminuye el flujo plasmático renal total, redistribuyendo la sangre de la corteza hacia la médula renal, y dado que el 80% de los glomérulos funcionales se encuentran en la corteza, esto se traduce en una disminución significativa de la filtración glomerular. La obstrucción tubular se produce como consecuencia de la inflamación de las células epiteliales y del descamamiento de las mismas, ocluyendo la luz tubular y obstruyendo el flujo del filtrado. Los túbulos a su vez pueden presentar un aumento de su permeabilidad, resultando en una fuga del filtrado desde la luz hacia el intersticio, reduciéndose de esta manera el aclaramiento renal. La disminución del ultrafiltrado es debida al depósito de proteínas e inmunoglobulinas a nivel de las membranas basales intraglomerulares, cambiando la polaridad de las mismas, alterándose así la permeabilidad y filtración glomerular.

2.2.3 Lesión renal por Isquemia-Reperfusión.

El mecanismo de la lesión por isquemia-reperfusión renal, reside en las propiedades metabólicas renales y en el gradiente de oxigenación del parénquima renal: corteza>medula>papila (figura 11). Las células en las diferentes regiones del riñón, están adaptadas para funcionar con el nivel de oxígeno de su microambiente respectivo, y es por ello que son altamente susceptibles a las lesiones causadas por la isquemia. La corteza externa tiene una alta reserva de oxígeno, y por ello sus células están relativamente protegidas. Las células epiteliales de la medula externa son especialmente susceptibles a la isquemia, pues dependen principalmente del mecanismo oxidativo y sus reservas de oxígeno son mínimas, al contrario de las células papilares, que residen en un ambiente hipóxico, y pueden sobrevivir con un metabolismo anaeróbico durante cortos períodos de isquemia.⁵²

La ausencia de aporte sanguíneo al riñón, la desoxigenación y la reperfusión, desencadenan una serie de eventos que llevan a la muerte celular. Existen 4 fases de respuesta de la lesión renal por isquemia-reperfusión: 1. adaptación, 2. extensión, 3. mantenimiento, y 4. reparación.^{53,54} La fase de adaptación se caracteriza por una depleción celular de ATP, seguido de alteraciones electrolíticas celulares, edema, y desarrollo de respuestas de stress celular. En la fase de extensión, que se produce durante la reperfusión, se disparan numerosos mecanismos inflamatorios, donde las células endoteliales

y epiteliales, secretan citoquinas y quimioquinas inflamatorias, y expresan moléculas de adhesión que promueven la activación de linfocitos, que generan a su vez más citoquinas y derivados radicales del oxígeno, que producen daño estromal y epitelial (figura 14 ⁵⁵). Durante la fase de mantenimiento, se produce inflamación inducida por la muerte celular, a pesar de la resolución de la hipoxia. Con la restitución del gradiente de oxigenación, la inflamación se detiene, y comienza la fase de reparación tisular, marcada por proliferación celular y normalización de sus funciones.⁵³⁻⁵⁴

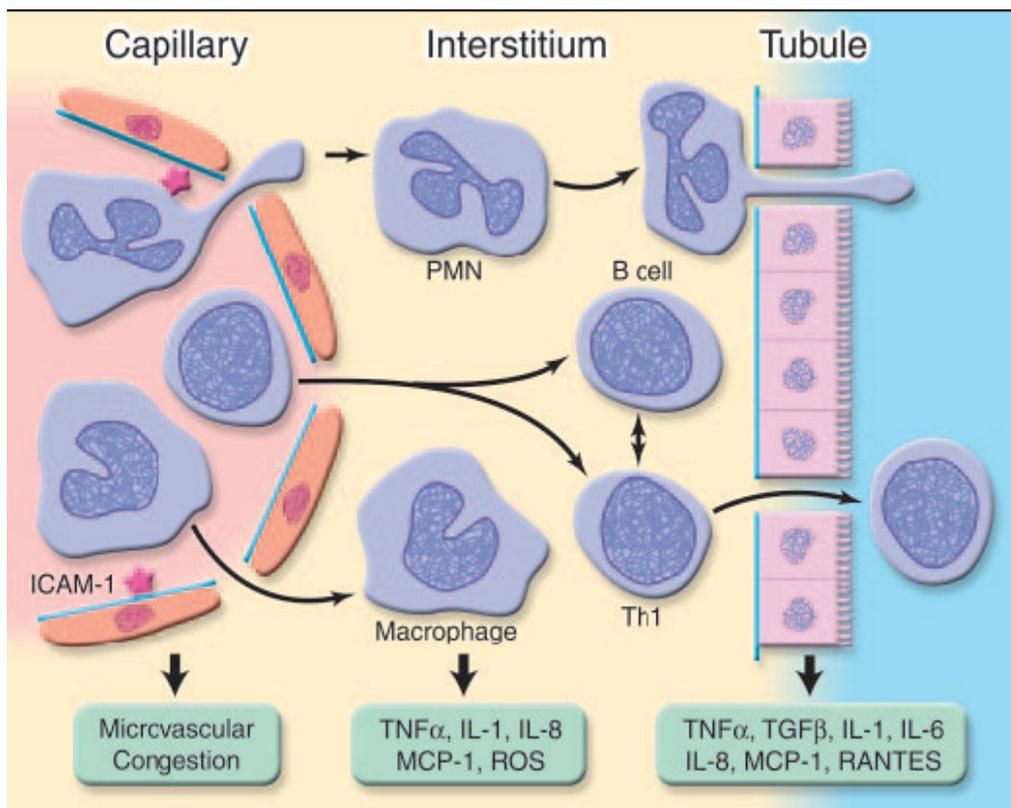


fig. 14 Alteraciones microvasculares e inflamación en la lesión isquémica renal aguda.

En resumen, la disfunción renal global es resultado de una combinación de procesos vasculares y tubulares. La vasoconstricción, alteración del músculo liso perivascular, congestión e inflamación vascular leucocitaria, y el daño endotelial, se traducen en la subsiguiente hipoxia parenquimatosa y lesión del epitelio tubular. Las células dañadas y muertas obstruyen el lumen tubular, alterándose el filtrado de fluidos. El efecto neto de la lesión por isquemia renal es la cesión en la producción urinaria (figura 15 ⁵⁵).

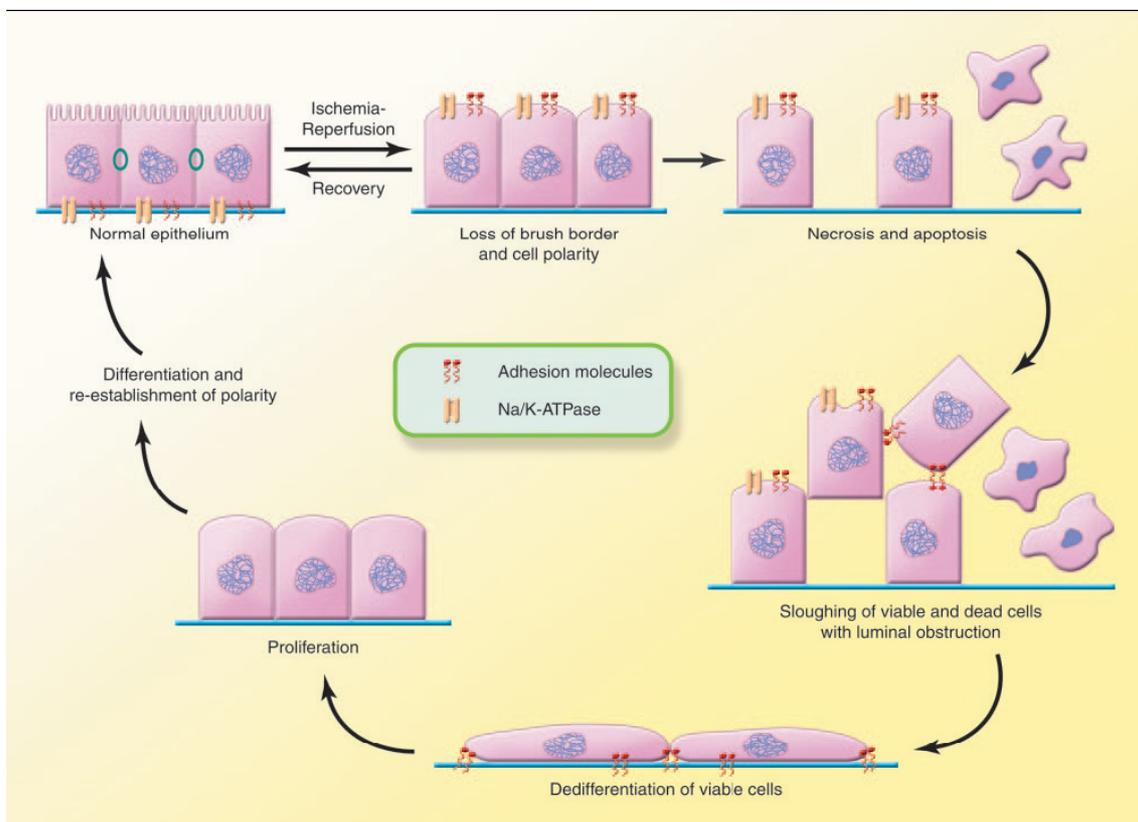


fig. 15 Alteración en la estructura del epitelio tubular producida por la lesión isquémica renal aguda.

2.3 Tipo de isquemia y daño renal.

Múltiples estudios y publicaciones clínicas y experimentales, se han realizado para analizar el efecto de la isquemia renal que ocurre durante la oclusión arterial intraoperatoria.^{56,57} El consenso parece estar, en que períodos de isquemia caliente mayores de 30 minutos, pueden condicionar un daño renal severo a nivel del epitelio tubular proximal, y períodos mayores a 60 minutos un daño irreversible. El mecanismo de daño tubular tiene un fundamento metabólico, relacionado con la depleción de las reservas de ATP a nivel de las membranas celulares, con la consecuente disminución en los procesos de transporte activo celular; esto se traduce en un flujo hidroelectrolítico intracelular, produciendo inflamación y desencadenando los mecanismos de muerte celular.^{47,49}

Existen medidas de preparación y protección a ser empleadas en pacientes que serán sometidos a una cirugía con oclusión temporal de la vasculatura renal; estas incluyen una correcta hidratación preoperatoria e intraoperatoria, prevención de la hipotensión durante la anestesia, evitar manipulación innecesaria y tracciones de la arteria renal, y administración intraoperatoria de manitol, ayudando a mejorar el flujo plasmático y limitar la lesión renal de isquemia-reperusión.⁴⁹

Es sabido que el enfriamiento del parénquima renal durante los períodos de isquemia preserva la función renal, lo cual es debido a la disminución de los requerimientos metabólicos de las células del

epitelio tubular cortical, reduciendo el consumo de oxígeno y la utilización de los depósitos de ATP.^{58,59} Con una temperatura renal de entre 15-20°C, se favorece una máxima protección.⁶⁰ Un efecto negativo de la hipotermia, parece ser la inactivación relativa de la bomba Na^+K^+ de las membranas celulares, pudiendo producir alteración del transporte hidroelectrolítico⁶¹, causando edema celular, lo cual es completamente reversible con temperaturas mayores a 4°C.⁶²

Dentro de las técnicas empleadas para lograr el enfriamiento renal, podemos mencionar la perfusión intrarrenal (arterial, venosa, y piélica), y el enfriamiento superficial (aplicación de solución salina congelada, o inmersión renal en solución de glicerina al 30% fría). Tanto el enfriamiento por perfusión intrarrenal, como la aplicación superficial de soluciones salinas congeladas, tienen la misma eficacia para alcanzar dicha temperatura, siendo la perfusión un método más eficiente para producir un enfriamiento más rápido y homogéneo, pero requiriendo una preparación más complicada, mientras que el enfriamiento superficial es sencillo de realizar con la disposición de los materiales en cualquier sala quirúrgica, pero tardando alrededor de 10 minutos para alcanzar la temperatura deseada, la cual no es totalmente homogénea.⁴⁹

2.3.1 Estudios en animales.

En pequeños animales como las ratas, el período máximo de isquemia caliente para garantizar la recuperación funcional renal es de 40 minutos, mientras que en conejos es de aproximadamente 60 minutos. Un estudio en ratas identificó que el período para la irreversibilidad del daño renal se encontraba entre los 60 y 90 minutos de isquemia, comparándose las tasas de supervivencia a 2 semanas (90%, 75%, 17%), en función de diferentes tiempos de isquemia 30, 60 y 90 minutos, respectivamente.⁶³ Dado que las diferencias anatómicas y fisiológicas en estos animales son muy distintas a los humanos, es difícil realizar la extrapolación y comparación en cuanto a la afectación y recuperación funcional.

Por el contrario, animales como perros y cerdos tienen más similitud con los humanos en cuanto a la masa corporal, la anatomía y fisiología renal; en estos animales se han reportado periodos de recuperación funcional tras 90 y 120 minutos de isquemia caliente, respectivamente.^{64,65} Un estudio de función renal en cerdos monorrenos, donde se definía la alteración funcional con un 25% o más en la disminución de la tasa de filtración glomerular, evidenció que esta alteración sucedió en el 41% y 100% de animales, con periodos de isquemia caliente de 30 y 60 minutos, respectivamente; a los 15 días, la creatinina plasmática y la tasa de filtración glomerular se habían normalizado.⁶⁶ Los estudios con grandes

animales, están limitados por el escaso número de animales que incorporan, y los cortos períodos de seguimiento.

2.3.2 Reporte de series clínicas.

Existen numerosas publicaciones en relación a la isquemia renal consecuencia de cirugías renales, vasculares y de trasplantes. En casos de reparaciones abiertas de aneurismas aórticos en los cuales el período de isquemia sobrepasa los 50 minutos, la azoemia ocurre en hasta el 80% de los pacientes, aunque la mayoría ya presenta previamente a la cirugía, condiciones de nefropatía crónica, hipertensión y aterosclerosis.⁶⁷

El tiempo de seguridad reportado en la literatura para la isquemia caliente durante la nefrectomía parcial es de 35-55 minutos⁵³. Los pacientes con un riñón contralateral normal, presentan un incremento de la creatinina plasmática de 0 a 0,4 mg/dl después de 22 a 27 minutos de isquemia caliente, existiendo mayor riesgo de desarrollo de daño renal agudo y enfermedad renal crónica en riñones de pequeño tamaño, monorrenos y enfermedad renal pre-existente.⁶⁸ Gill y col., publican una serie multi-institucional, con 1028 pacientes sometidos a nefrectomía parcial abierta, y 771 pacientes en quienes se realizó una nefrectomía parcial laparoscópica, reportó tiempos de isquemia caliente de 20 y 30,7 minutos, para cada grupo, y definió el daño renal como una elevación de la creatinina plasmática mayor de 2 mg/dl de la basal preoperatoria, encontrando una tasa de 6,4% y

1,6%, respectivamente; la incidencia postoperatoria en ambos grupos de daño renal agudo fue de 0,9%, lo cual apoya el dato que 30 minutos de isquemia caliente son seguros para pacientes con función renal preoperatoria normal.⁶⁹

Las publicaciones en relación a nefrectomías parciales en riñón único, sugieren que estos pacientes presentan un mayor riesgo de daño renal y disfunción postoperatoria, producto de la ausencia de la compensación por parte de un riñón contralateral y de la disminución del parénquima renal funcionante. El período de isquemia durante las cirugías parciales en estos pacientes, debe ser más corto que en el caso de los pacientes birrenos. Fergany y col., reportan una serie multi-institucional, con resultados funcionales en 537 pacientes monorrenos, sometidos a nefrectomía parcial abierta; de los 174 pacientes intervenidos mediante isquemia caliente, 16% presentaron daño renal agudo, 30% progresaron a enfermedad renal crónica y 7% con enfermedad renal terminal, mientras que los 278 en quienes se realizó la cirugía mediante isquemia fría, presentaron tasas de 26%, 41% y 5%, respectivamente, concluyendo los autores que el riesgo postoperatorio de daño renal agudo era equivalente para periodos de isquemia caliente de 20 minutos, y fría de 35 minutos.⁷⁰ A su vez, Gill y col., reportaron los resultados funcionales en 22 pacientes monorrenos sometidos a nefrectomía parcial laparoscópica, encontrando una disminución de la tasa de filtración glomerular del 33% (de 67,5 a 50 ml/minutos) y un incremento en la creatinina

plasmática de 1,5mg/dl, concluyendo que eran comparables los resultados funcionales de esta cirugía con los periodos de isquemia caliente de 30 minutos en las nefrectomías parciales abiertas, produciéndose un mínimo decremento a nivel funcional.⁷¹

Pese a que históricamente el tiempo de seguridad en cuanto a la duración de la isquemia durante la nefrectomía parcial ha sido entre 20-30 minutos,^{49,60} recientes publicaciones sugieren que este período debe acortarse, a un tiempo menor de 20 minutos siempre que sea posible,⁷²⁻⁷⁵ pues cada minuto de isquemia cuenta en la producción de daño y recuperación funcional celular. Thompson y col., publican en 2010 una serie de 362 pacientes monorrenos, en quienes se realizó una nefrectomía parcial (abierta en 319 y laparoscópica en 43 pacientes) logrando la isquemia caliente mediante clampaje hiliar (4-55 minutos, con una media de 21 minutos), evidenciando que cada minuto adicional de isquemia caliente se asociaba con un incremento del 5-6% en el riesgo de desarrollar daño renal agudo o bien una <15ml/minuto de la tasa de filtración glomerular, demostrando que la prolongación del período de isquemia (sin técnicas de hipotermia), se asocian a un aumento del riesgo a desarrollar daño renal a corto y largo plazo.⁷⁶

En la actualidad, existe la tendencia a realizar la cirugía parcial renal mediante disección vascular del seno renal y clampaje segmentario, o incluso sin isquemia (realizando microdisección, cauterización y ligadura, mediante colocación de micro-clamps en las

arteriolas que se dirigen hacia el tumor), principalmente en los casos de pacientes monorrenos o con enfermedad renal basal, que presenten lesiones corticales exofíticas sin invasión parenquimatosa profunda. Así lo demuestran Thompson⁷⁷ y Gill ⁷⁸, con nefrectomías parciales sin isquemia, realizadas en 96 y 15 pacientes, respectivamente.

2.4 La influencia del género en el daño renal.

El género actúa como fenotipo mediador de las respuestas a las enfermedades. Es importante tener en cuenta este hecho, para conocer los mecanismos que producen y participan en estas diferencias, y que pueden ayudar en el manejo terapéutico. El dimorfismo sexual en la enfermedad renal es bien conocido,⁷⁹ y se han investigado y estudiado los efectos que los esteroides sexuales tienen sobre el tejido renal.^{80,81} Mientras que los estrógenos parecen tener un efecto protector,⁸² la testosterona pudiera jugar un rol muy importante en la lesión renal.^{83,84}

El efecto del género sobre la enfermedad renal, y dentro de ella la isquemia renal, se ha investigado principalmente mediante estudios de clampaje del pedículo vascular o de la arteria renal.⁸⁵ Los mecanismos por los cuales los esteroides sexuales contribuyen con la lesión renal por isquemia son varios, pareciendo principalmente influir

en la respuesta inflamatoria y la muerte celular programada (apoptosis).^{82,86}

2.4.1 Diferencias anatómicas y fisiológicas.

Existe evidencia en cuanto al dimorfismo sexual en la fisiología y fisiopatología de la lesión renal por isquemia reperusión.⁸⁷ El tejido renal expresa tanto receptores androgénicos como estrogénicos.⁸⁸ Las hembras tienen más glomérulos por gramo renal, mayor resistencia renovascular, menor tasa de filtración glomerular absoluta, y un flujo plasmático renal menor; estos efectos son parcialmente revertidos por la ooforectomía.⁸⁹ También existe un importante dimorfismo ultraestructural, teniendo los machos mitocondrias más largas, más lisosomas, y más ribosomas en las células tubulares proximales; la orquiectomía hace desaparecer estas diferencias.⁹⁰

Los modelos de lesión renal isquémica muestran importantes diferencias. Las hembras tienen una significativa mejoría en la supervivencia tras la exposición a isquemia renal (75% vs 8%); el tratamiento de los machos con estradiol mejora su supervivencia, pero ni la administración de testosterona a las hembras, ni tampoco la ooforectomía, tienen el mismo efecto.⁹¹ Los machos presentan mayores lesiones funcionales y estructurales producidas por la isquemia, existiendo un aumento significativo de las lesiones tras la

exposición androgénica, y un menor efecto protector de los estrógenos.⁸³

2.4.2 El género y la fisiopatología de la isquemia renal.

La lesión de isquemia reperfusión es consecuencia de complejos procesos metabólicos, moleculares y estructurales, que resultan en lesión, necrosis y apoptosis de las células tubulares proximales (figura 16⁵⁵).

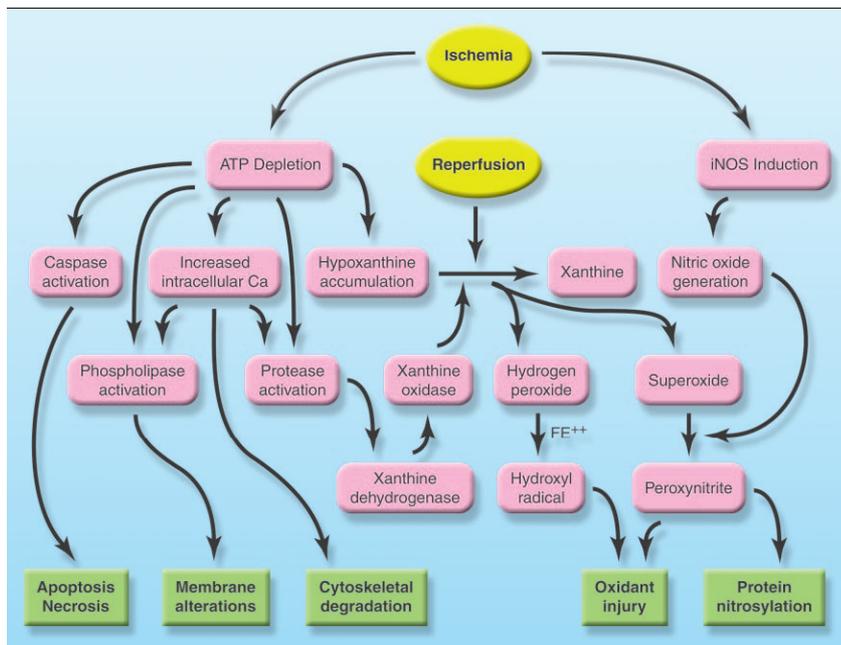


fig. 16 Alteración en el metabolismo del epitelio tubular producido por la lesión renal isquémica aguda.

Los esteroides sexuales participan en muchos de estos procesos, actuando a nivel del endotelio vascular, la respuesta inmunológica, el stress oxidativo, y las vías de muerte celular entre otros.^{82,87} Los mediadores paracrinosis vasculares, mecanismos

inflamatorios, la respuesta inmune, los cambios ultraestructurales, y la apoptosis, tienen elementos esteroides-dependientes (figura 17)⁸⁶.

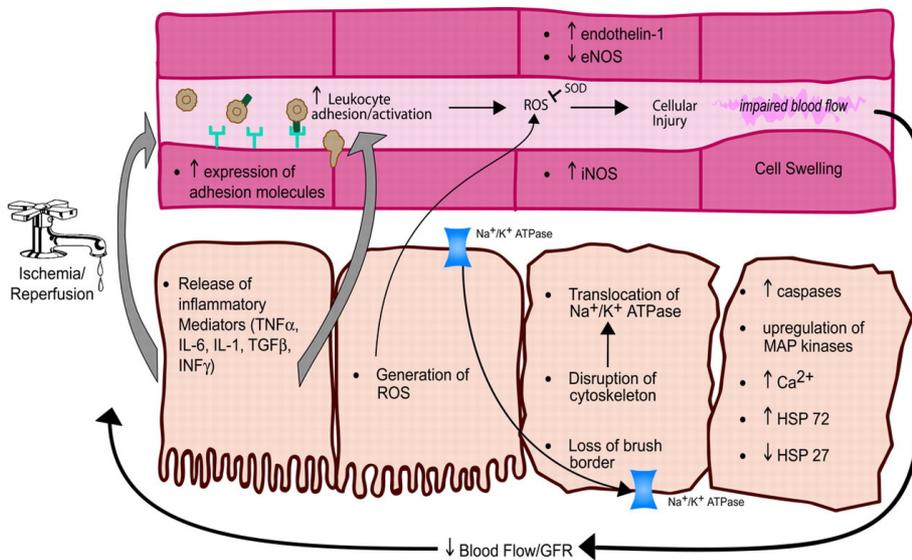


fig. 17 Eventos moleculares durante la iniciación de la lesión renal por isquemia-reperfusión.

Como se comentó anteriormente, el daño endotelial y la alteración del tono vascular, ocurren como resultado de un aumento en la sensibilidad a vasoconstrictores, disminuyendo la vasodilatación arteriolar.⁹²⁻⁹³ La lesión endotelial causa a su vez inflamación celular, secundariamente se produce un estrechamiento de la luz vascular, disminuyendo así el flujo sanguíneo.⁹⁴ La reperfusión paradójicamente causa mayor alteración del flujo sanguíneo.⁹⁵ El aumento en los solutos a nivel de la nefrona distal, debido en parte a la lesión del epitelio tubular, aumenta la vasoconstricción por mecanismos de autorregulación túbulo-glomerular, resultando en una disminución de la tasa de filtración glomerular. También se ve afectada la respuesta arteriolar a los vasodilatadores como el óxido nítrico endotelial,⁹⁶⁻⁹⁸ el cual se encuentra aumentado en las mujeres

en relación a los hombres.^{83,99} El efecto que tiene la administración de estradiol sobre el óxido nítrico es controversial, existiendo estudios que demuestran un aumento,¹⁰⁰ y otros donde no tiene efecto alguno.¹⁰¹ La testosterona parece inhibir la activación post-isquémica del óxido nítrico endotelial.⁸³ Vasoconstrictores como adenosina, angiotensina II, y endotelina-1, responden de manera diferente a la estimulación esteroide-dependiente durante la isquemia.^{91,102}

La lesión tisular isquémica, es exacerbada por una fuerte respuesta inflamatoria durante la reperfusión; aumenta la adhesión de moléculas endoteliales, se liberan las citoquinas y quimioquinas, y se activan el complemento y los leucocitos.^{103,104} Estos mecanismos son esteroide-dependiente en órganos como el hígado, cerebro, y corazón, por lo cual es planteable una similitud en la respuesta ante la isquemia-reperfusión a nivel renal.^{82,86}

Tras la isquemia se producen alteraciones en la función de organelas celulares oxígeno-dependientes. Los peroxisomas y la cadena de transporte de electrones en las mitocondrias fallan, dañándose muchas funciones celulares y citoesqueléticas, y activando mecanismos de respuesta al stress celular.¹⁰⁵ Bajo circunstancias normales, las células epiteliales tubulares están polarizadas, con la Na⁺K⁺ATPasa localizada en la membrana latero-basal; durante la isquemia, se produce una alteración de la polarización, resultando en la pérdida del gradiente, aumentando los electrolitos dentro de la célula, y se produce edema.

Las aberraciones del citoesqueleto celular producen descamación de las células hacia la luz tubular obstruyéndola. Estas se contrarrestan en parte por las "heat shock proteins HSP",¹⁰⁶ y por la expresión de la superóxido-dismutasa.¹⁰⁷ En ratones expuestos a isquemia focal, se ha evidenciado que las hembras presentan menor translocación de la Na⁺K⁺ATPasa, y que su actividad está más incrementada.¹⁰⁸ Por otra parte, la actividad de la superóxido-dismutasa mitocondrial renal es atenuada por la testosterona, lo cual favorece la activación de los mecanismos de respuesta al stress celular en las células tubulares proximales.^{83,109} Los niveles de HSP72 aumentan tanto en machos como en hembras a las 2 horas de producirse la isquemia, pero en las hembras se mantiene el efecto protector de la co-localización de la HSP72 y la Na⁺K⁺ATPasa, mientras que en los machos desaparece.^{110,111} La testosterona elimina la respuesta regulatoria de la HSP72 ante la isquemia, aumentando la lesión celular.¹¹² Estos hallazgos demuestran que los mecanismos de regulación citoesquelética en respuesta a la isquemia-reperfusión son esteroide-dependientes.

En cuanto a la muerte celular programada (apoptosis), el análisis microscópico post-isquemia demuestra mayor daño necrótico. Las caspasas (proteasas activadas en la apoptosis), son importantes mediadores en la lesión por isquemia-reperfusión,¹¹³⁻¹¹⁵ así como también las kinasas c-jun N-terminal (JNK), p38, y la extracelular señal dependiente (ERK), que controlan la supervivencia celular, la

necrosis, apoptosis, y se encuentran aumentadas en el riñón durante la isquemia.¹¹⁶⁻¹¹⁸ La inhibición de JNK y ERK parece reducir la lesión isquémica.^{119,120} La fosforilación de ERK post-isquemia se reduce en presencia de testosterona, mientras que JNK aumenta.⁸³ En concentraciones fisiológicas la testosterona puede inducir la apoptosis en cultivos de células tubulares in vitro; la flutamida y los estrógenos pueden prevenir dicho efecto.⁸⁴ Esto sugiere la participación de los esteroides sexuales en las señales y mecanismos de activación de la apoptosis en respuesta a la isquemia renal (figura 18⁸⁶).

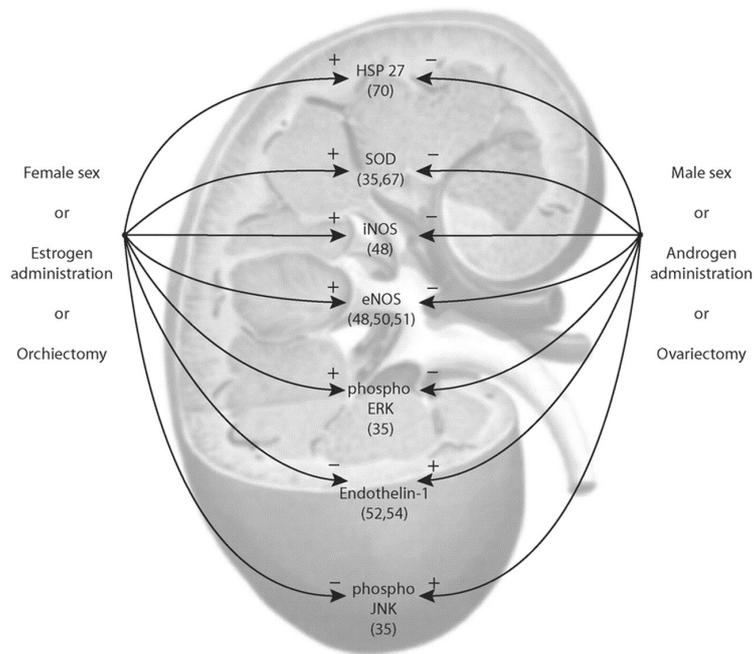


fig.18 Efecto del género/esteroides sexuales en los mediadores moleculares de la isquemia-reperfusión.

3. HIPOTESIS.

H0: La hipótesis nula es que ni el tipo de isquemia utilizada durante la nefrectomía parcial abierta, ni el género del animal, influyen en el daño renal producido tras la isquemia-reperfusión.

H1: La isquemia renal caliente produce mayor afectación renal durante la cirugía parcial del riñón que la isquemia fría.

H2: El daño renal producido durante la nefrectomía parcial abierta, es mayor en los machos, y su recuperación se produce de forma más tardía que las hembras.

4. OBJETIVOS.

- Determinar si según el tipo de isquemia utilizada durante la nefrectomía parcial abierta, caliente o fría, se evidencian diferencias en las alteraciones bioquímicas plasmáticas (urea y creatinina), anatomopatológicas (lesión tubular o intersticial), en cerdos monorrenos.
- Valorar la existencia de estas diferencias según el género de los animales.
- Conocer si en función del tipo de isquemia, se puede garantizar la preservación de la función renal en función del tiempo quirúrgico empleado durante la cirugía.
- Plantear según los resultados, la influencia del género en la cirugía parcial del riñón y en su recuperación postoperatoria.

5. MATERIALES Y MÉTODOS.

5.1 Diseño experimental.

El estudio se realizó con cerdos de granja, híbridos entre Large White y Landrace, hembras y machos (estos últimos sin castrar), de 4 meses de edad, libres de patógenos específicos y de entre 30 - 40 kg de peso.

A todos ellos durante el primer día operatorio, se les practicó en un primer tiempo, una nefrectomía izquierda laparoscópica; durante un segundo tiempo de laparotomía, después de 30 minutos de isquemia arterial caliente o fría (según el grupo de asignación), los riñones derechos fueron sometidos a una polectomía inferior (aproximadamente 3cm de parénquima); posteriormente a la sutura del parénquima, y tras 5 minutos de reperusión arterial, se obtenía una biopsia polar superior (aproximadamente 1 cm de parenquima).

Los animales se distribuyeron en 2 brazos de estudio:

- **Grupo A:** isquemia arterial caliente.
- **Grupo B:** isquemia arterial fría.

Tras ser despertados, los animales pasaban a la corralina del estabulario, durante el período postoperatorio. En un segundo día operatorio (a los 7 días del primero), se realizaba un tercer tiempo quirúrgico mediante laparotomía, consistente en una nefrectomía derecha, y se procede a practicar la eutanasia del animal.

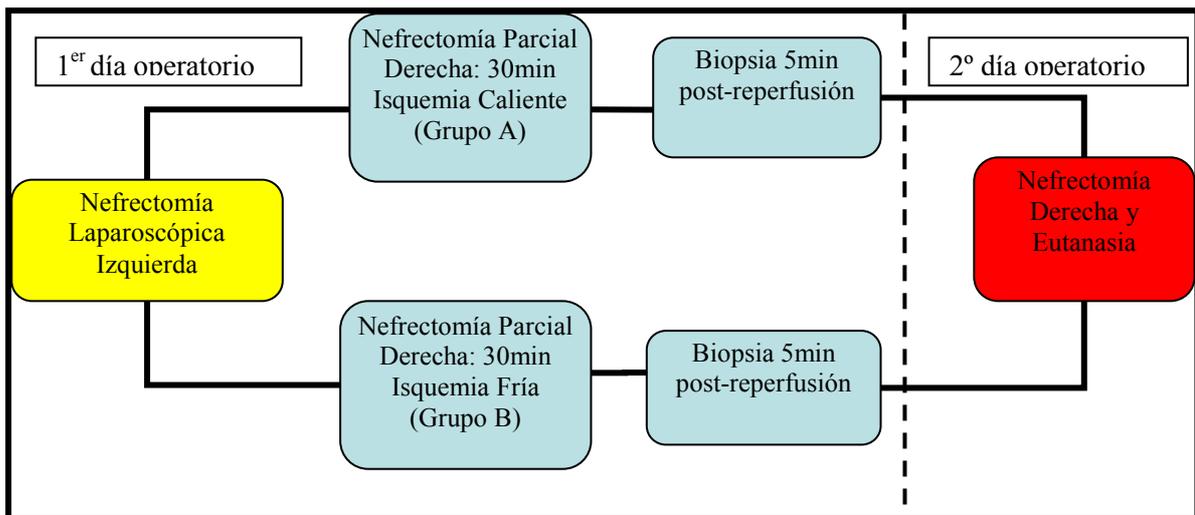


fig. 19 Esquema del diseño experimental.

5.2 Recogida de muestras (tabla 1).

- **Muestras sanguíneas:** Se realizaron análisis sanguíneos a través de la canulación de la arteria carótida y la vena yugular interna (colocados durante el primer tiempo quirúrgico), dejándose dichos catéteres tunelizados por vía subcutánea hasta el final del experimento. Las muestras eran tomadas en el preoperatorio, postoperatorio, día 1, día 3 y día 7. Se medían los niveles séricos de creatinina y urea.
- **Muestras tisulares:** Las biopsias de tejido se realizaron en 4 momentos, obteniéndose dos muestras que se preservaron en formaldehído al 10% (una para valorar lesión tubular y otra para lesión intersticial):
 - 1: Biopsia del riñón izquierdo (previa nefrectomía), de la que se obtendrán 2 fragmentos (estas muestras han estado sometidas a 45 minutos de neumoperitoneo).

2: Biopsia del polo inferior del riñón derecho tras 30 minutos de isquemia (caliente o fría).

3: Biopsia del polo superior del riñón derecho, 5 minutos después de la reperfusión (desclampaje arterial).

4: A los 7 días, previa realización de la nefrectomía derecha, se tomaban biopsias del parénquima sano según el mismo esquema.

Tabla 1.	BASAL (birrenos)	ISQUEMIA (30 minutos)	POST- Reperfusión (5 minutos)	1er día POST IQ	3er día POST IQ	7mo día POST IQ
Anatomía Patológica	biopsia nefrectomía izquierda	biopsia nefrectomía parcial derecha	biopsia polar derecha	-	-	biopsia nefrectomía derecha
Urea/Creatinina plasma	+	-	+	+	+	+

5.3 Análisis de las muestras.

5.3.1 Medición de parámetros bioquímicos.

Las muestras sanguíneas se llevaban al laboratorio clínico de nuestro centro para su procesamiento.

La determinación de creatinina sérica se realizó mediante la reacción cinética tamponada de Jaffé (sistema diagnóstico de Boehringer Mannheim) con un sistema de Roche/Hitachi 917. El principio de este método se basa en que, en medio alcalino, la creatinina forma el ácido pícrico, un complejo de color amarillo rojizo. La intensidad del color es directamente proporcional a la concentración de creatinina y se determina fotométricamente a

500nm. La imprecisión del método para la creatinina sérica se determinó en dos sueros control comercial (Precinorm y precipath, Roche) a dos niveles de concentración.

La determinación de urea sérica se realizó extrayendo 3ml de sangre con heparina para extraer el plasma (GD UV cinético, Human, N° 10521), en un autoanalizador Cobas Mira Plus^{®6}, espectrofotómetro Hitachi 4020[®]. El método usado en la determinación de urea fue el enzimático "punto final"; es decir, mide el consumo total del substrato en 30 minutos.

5.3.2 Medición de parámetros anatomopatológicos.

El examen anatomopatológico se realizó mediante microscopio óptico. El material para microscopia óptica fue fijado en una solución de formol al 10% e incluido en parafina. La inclusión se realizó con un procesador de tejido Citadel 2000 de Shandon. El punto de fusión de la parafina utilizada fue de 58-60°C. Los bloques de tejido parafinado fueron cortados con un microtomo de rotación de Reichert-Jung 2035 hasta obtener cortes de tejido con un espesor aproximado de 3 micras. Estos cortes fueron desparafinados y teñidos con hematoxilina-eosina, ácido periódico de Schiff (PAS) y tricromico de masson.

A continuación se analizaron al microscopio óptico (por personal del servicio de Anatomía Patológica de nuestro centro), para clasificar el grado de las lesiones a nivel tubular e intersticial, clasificándose las lesiones según la siguiente escala de puntuación:

- Afectación tubular epitelial:

0. Ausencia o dilatación con disminución del ribete en cepillo.
1. Vacuolización proximal con alguna célula necrótica aislada.
2. Vacuolización proximal con células necróticas diseminadas.
3. Vacuolización proximal con grupos de células necróticas.

- Afectación intersticial:

0. Ausencia de infiltrado inflamatorio o <10% del parénquima.
1. Infiltrado inflamatorio 10-25% del parénquima.
2. Infiltrado inflamatorio 26-50% del parénquima.
3. Infiltrado inflamatorio >50% del parénquima.

- Atrofia tubular cortical:

0. Ausencia de atrofia.
1. Atrofia <25% de los túbulos.
2. Atrofia 25-50% de los túbulos.
3. Atrofia >50% de los túbulos.

- Fibrosis intersticial cortical:

0. Ausencia de fibrosis.
1. Fibrosis <25% del intersticio.
2. Fibrosis 25-50% del intersticio.
3. Fibrosis >50% del intersticio.

5.4 Aspectos éticos.

El protocolo experimental cumple los requerimientos de los Dictámenes europeos para la protección de los animales utilizados

con fines científicos y experimentales (86/609 EEC), y cuenta con la aprobación por el Comité de Ética Experimental del Institut de Recerca Vall d'Hebrón (34/08 CEEA).

5.5 Justificación del modelo animal.

Como se mencionó en la revisión bibliogràfica, los modelos animales utilizados para el estudio de la isquemia renal han incluido pequeños (ratas, ratones, conejos), y grandes animales (perros, cerdos). La respuesta a la isquemia renal está en relación con el tamaño del animal y del riñón, por ello la especie de animal elegida para este procedimiento es el cerdo, pues son bastante similares a los humanos en cuanto a tamaño, anatomía, maduración y función renal, por lo que creemos que pueden aportar resultados que sean extrapolables a la especie humana.

Partiendo de estudios experimentales previamente realizados, donde se utiliza un número de animales y agrupaciones de similares características, se han clasificado los animales en 2 grupos según el tipo de isquemia renal que se vaya a practicar (fría o caliente), y estos a su vez se han subclasificado en 2 subgrupos según el sexo.

La utilización de animales de ambos sexos, se debe a que en publicaciones previas y en estudios experimentales llevados a cabo en este mismo centro (30/05 CEEA), se han evidenciado diferencias del grado de lesión renal en función del sexo, por lo cual y partiendo de esta base, se esperarí encontrar diferencias entre ambos géneros

en función del tipo de isquemia entre los diferentes subgrupos, basándonos en un tiempo de isquemia actualmente estandarizado como fisiológicamente seguro para la realización del clampaje arterial durante la cirugía parcial del riñón (30 minutos).

5.6 Protocolo quirúrgico y anestésico.

5.6.1 Preoperatorio.

Los animales llegaban al estabulario una semana antes del inicio del experimento para su aclimatación y comprobación del estado sanitario. Todos los animales se sometían a un período preoperatorio de ayuno de 12h en las que sólo tenían acceso libre al agua.

El día de la intervención los veterinarios administraban al animal dentro de la corralina, una premedicación sedativa mediante la inyección intramuscular de zoletil (tiletamina/zolacepam, 3 mg/kg), xilacina (2 mg/kg) y atropina (0.01 mg/kg). La consecución de la preanestesia se comprobaba mediante la abolición del reflejo de estación (imposibilidad del animal para permanecer de pie). El animal era transportado hasta el prequirófano, donde era pesado, lavado y rasurado. Igualmente se le colocaba una vía venosa periférica a nivel de una vena del pabellón auricular (20 G y 2,5 cm de longitud).

Se procedía a continuación a trasladar al animal a la mesa de quirófano, donde se le colocaba en posición de decúbito supino sobre

una manta térmica para controlar la temperatura. Se hacía la ficha quirúrgica del experimento (Anexo 1).

5.6.2 Anestesia.

Tanto la inducción como el mantenimiento de la anestesia, se realizaron mediante la inhalación de isoflurano al 2%. Durante la intervención, la analgesia se llevaba a cabo con fentanilo EV (1.5-3 mg/kg).

5.6.3 Ventilación.

La preoxigenación se llevaba a cabo con mascarilla de Hall durante 5 minutos, momento en el cual, tras comprobarse un reflejo laríngeo negativo, la veterinaria procedía a la intubación con un tubo endotraqueal. Si en el momento de la intubación se observaba un reflejo laríngeo positivo se administraba un bolus de propofol a dosis de 3 mg/kg.

La ventilación mecánica se mantenía con el respirador veterinario Model 2000 de Hallowell EMC, manteniendo una fracción de inspiración de oxígeno (FiO₂) de 100% con una presión inspiratoria pico máxima (PIP max) de 20 cm H₂O, un volumen corriente de 10-15ml/kg y una presión positiva intermitente (PEEP) de 5 cm. de H₂O.

5.6.4 Canulación vascular (vías centrales).

Una vez intubado, se procedía al entallado de la zona paratraqueal derecha, practicando en condiciones estériles una incisión de longitudinal entre 5-10 cm., y disección por planos hasta identificar la vena yugular y arteria carótida interna derecha, que eran canuladas mediante un catéter de 2,1mm de diámetro, fijados con ligaduras de sedas 2.0, para el manejo de la sueroterapia, obtención de presión venosa y arterial, así como poder realizar la extracción de muestras analíticas al inicio y final de la cirugía y en los días posteriores.

5.6.5 Monitorización intraoperatoria.

En todo momento el animal permanecía monitorizado mediante:

- Presiones centrales arteriales y venosas.
- Temperatura a través de un sensor intraesofágico.
- Capnografía.
- Pulsioximetría, mediante un pulisoxímetro colocado en la cola.
- Concentraciones espiradas de CO₂.
- ECG, mediante 3 electrodos colocados en el tórax.
- Gasometrías arteriales al inicio de la cirugía y tras la reperfusión del injerto.

5.6.6 Cirugía.

5.6.6.1 Primer día operatorio.

1er Tiempo: Nefrectomía Laparoscópica Izquierda (todos los animales neumoperitoneo durante 45 minutos):

- Inducción anestésica, intubación endotraqueal y canalización de vías venosas periférica y centrales (muestra basal de sangre).
- Posición en decúbito supino lateralizado hacia la derecha, y preparación del campo quirúrgico estéril.
- Creación del neumoperitoneo mediante aguja de veress a nivel subcostal (12 mmHg).
- Colocación de trocares en triangulación (1 x 10mm para cámara, y 2 x 5mm para pinzas).
- Disección y preparación del pedículo renal izquierdo (identificación arterio-venosa mediante ligaduras de seda 1, sin ligar).
- Biopsia polar inferior (muestra basal tisular pre-isquemia), e inmediata ligadura doble arterial y venosa.
- Sección del pedículo renal en el mismo orden, y posterior ligadura y sección del uréter, dejando el riñón en la fosa renal para ser extraído durante el segundo tiempo.

2do Tiempo: Nefrectomía Parcial Abierta Derecha (todos los animales, apareados según subgrupos tipo isquemia/sexo):

- Posición decúbito supino y preparación del campo quirúrgico estéril.
- Laparotomía media por planos (en el caso de los machos se realizaba una incisión para-peneana y para-uretral izquierda).
- Comprobación de ligadura del pedículo renal izquierdo y extracción del riñón izquierdo.
- Disección del riñón derecho y del pedículo vascular, e inducción de la isquemia (30 minutos) mediante clamp vascular tipo bulldog (la isquemia caliente se realizó con clampaje simple de la arteria renal, mientras que para la isquemia fría se utilizó además del clampaje simple arterial, solución estéril de suero fisiológico congelada y triturada, que se aplicó sobre toda la superficie renal durante todo el tiempo de duración de la isquemia).
- Nefrectomía parcial polar inferior a los 30 minutos de isquemia.
- Previo al desclampaje arterial, se realizaron puntos de plicatura del parénquima con vicryl 2-0 y aplicación de material hemostático de fibrina reabsorbibles (tachosil y surgicel, de uso habitual como hemostático en cirugía humana).
- Desclampaje arterial y revascularización renal.
- Biopsia polar superior a los 5 minutos post-reperfusión, y punto de plicatura hemostático con vicryl 2-0.
- Comprobación de hemostasia del parénquima renal.
- Cierre abdominal por planos con vicryl 2-0 y piel con seda 2.

- Tunelización subcutánea-fijación, de catéteres vasculares centrales y de cistostomía (muestra post-operatoria de sangre).

Durante toda la cirugía se administraba suero Ringer Lactato a dosis de 10 ml/kg/hora, y antes de finalizar se inyectaba una sobrecarga de 40 mg de furosemida para favorecer la diuresis y 1 ml de buprenorfina como analgesia postoperatoria.

Como profilaxis antibiótica se administraba antes de iniciar la intervención 1g de cefazolina ev, y en el momento de finalizar una dosis de 15 mg/kg de amoxicilina-clavulánico.

5.6.6.2 Segundo día operatorio.

Nefrectomía Abierta Derecha y Eutanasia (todos los animales a los 7 días):

- Inducción anestésica, intubación endotraqueal (muestra final de sangre y aspirativa de orina).
- Posición en decúbito supino y creación del campo estéril.
- Laparotomía media por planos y disección renoureteral y del pedículo vascular renal derecho, preparándolo para el clampaje en bloque.
- Biopsia de parénquima renal sano del tercio medio renal (muestra tisular final), e inmediato clampaje, sección y ligadura vascular y ureteral.
- Nefrectomía derecha.
- Cierre abdominal por planos.

- Eutanasia del animal y finalización del experimento según el protocolo.

5.6.7 Postoperatorio.

Una vez finalizada la intervención se suspendía la administración de anestésico y se comprobaba el posterior despertar del animal mediante el reflejo podal, esperando la aparición del reflejo de masticación para proceder a la extubación. Una vez extubado se proseguía la ventilación manual con mascarilla de Hall durante unos 20 minutos, tras los cuales el animal era trasladado a la corralina donde se le facilitaba pienso y agua "*ad libitum*". La pauta analgésica en los días posteriores consistía en bupremorfina intramuscular los 3 primeros días a dosis de 0.02 mg/kg. Si se observaban posturas anormales (espalda curvada, inmovilidad), taquipnea o taquicardia, se administraba más analgésia.

A las 48 horas se administraba una segunda dosis de amoxicilina-clavulánico, y si el animal presentaba fiebre superior a 38,5°C o valores de leucocitosis superiores a 15.000/mcL se repetía la administración cada 48 horas.

5.7 Limitaciones del experimento.

Según el seguimiento diario del estado del animal se establecieron:

1. Medidas correctoras:

- Aumento de la analgesia: Posturas anormales, taquipnea o taquicardia
- Tratamiento antibiotico: si $T^a > 38,5^{\circ}c$

2. Criterios para interrumpir el experimento:

- a. Inestabilidad hemodinámica o shock hipovolémico que responda a medidas de reposición.
- b. Sufrimiento o mal estado general postoperatorio.
- c. Proceso séptico que no responda al desbridamiento quirúrgico y/o antibiótico terapia.

5.8 Protocolo de supervisión.

Para detectar las situaciones anteriores, indicando parámetros a controlar, frecuencia de supervisión, personas que lo realizarán y qué medidas correctoras están previstas aplicar.

5.9 Duración del experimento.

El tiempo que pasa desde la primera manipulación del animal hasta su eutanasia: 7 días.

5.10 Finalización del experimento.

Al finalizar el procedimiento, está previsto realizar la eutanasia de los animales, mediante la sobredosis de anestésico EV (pentobarbital), previa sedación del animal.

6. RESULTADOS.

El estudio y análisis de los datos se realizó con el software estadístico SPSS 12.0. Se utilizaron medias para expresar tendencias. Para el contraste de variables cualitativas se utilizó el Chi-cuadrado, mientras que para las cuantitativas se utilizó el test no paramétrico U de Mann-Whitney. Se estableció como punto de significación estadística una $p < 0,05$.

6.1 Muestra, cirugía y evolución postoperatoria.

Para realizar el estudio se necesitaron un total de 34 animales, de los cuales el experimento fue completado por 26 (14 hembras y 12 machos); 5 animales murieron de forma espontánea (1 macho durante la inducción anestésica-intubación antes de iniciar la cirugía, 2 hembras por inestabilidad hemodinámica durante la intervención, y 2 machos en el postoperatorio inmediato tras acabar la cirugía por parada cardiorrespiratoria), y a 3 animales (2 machos y 1 hembra), se le aplicaron los criterios de finalización anticipada del experimento (por status séptico y mal estado general).

Los 26 animales que completaron el estudio, presentaron un peso medio de 34.50 Kg (29.50-41.80), la media de peso según el sexo fue de 34.13 Kg para las hembras (29.50-40), y de 35.02 Kg para los machos (30-41.8), sin hallarse diferencias estadísticamente significativas entre ellos ($p > 0.05$).

Los animales fueron distribuidos de forma homogénea entre entre los dos grupos de isquemia, caliente (7 hembras y 6 machos), y fría (7 hembras y 6 machos).

Dado que el protocolo quirúrgico requería de un estricto control y cumplimiento de los tiempos en las diferentes fases de la cirugía del 1er día operatorio, no hallamos diferencias en cuanto a los tiempos quirúrgicos, si bien el tiempo medio en los procedimientos fue de 200 minutos (160-240), explicándose la variabilidad en cuanto al tiempo de inducción anestésica, canulación vascular central, cambios posturales del animal durante la cirugía, y despertar anestésico.

En cuanto a los parámetros de monitorización intraoperatoria, no se hallaron diferencias significativas en función del tipo de isquemia ni tampoco del género. Así, encontramos que la tensión arterial media fue de 83.13 mmHg, y la presión venosa central media fue de 5.30 mmHg. En cada cirugía se cumplimentaba una tabla de datos que se recoge en el (Anexo 2).

La recuperación de los animales durante el postoperatorio también fue recogida en un formulario (Anexo 3), en el que se valoraban datos clínicos como el aspecto del animal, la postura, coloración y humedad de las mucosas, movilidad o comportamiento, temperatura rectal, estado de las suturas, así como la ingesta de líquidos y alimentos, y el aspecto de las heces. Tampoco hallamos diferencias significativas en este sentido.

6.2 Resultados bioquímicos.

En cuanto al análisis de los parámetros bioquímicos (urea y creatinina), cuando se estudiaron y compararon los grupos según el tipo de isquemia y el género, se evidenciaron curvas similares en todos los casos, presentando un empeoramiento de los valores entre el preoperatorio y el 1er día postcirugía, y desde entonces se evidenciaba una tendencia hacia la normalización.

6.2.1 Valoración en función de la isquemia.

Se evidenciaron diferencias significativas ($p < 0.05$) en la media de creatinina a favor de la isquemia fría solo en el primer día postoperatorio (gráfico 1), mientras que para la urea estas mismas diferencias no resultaron significativas (grafico 2). La isquemia caliente presentó una tendencia a mantener un valor postoperatorio mas elevado hasta el tercer día, y desde entonces se producía una inversión de los valores con respecto a la isquemia fría.

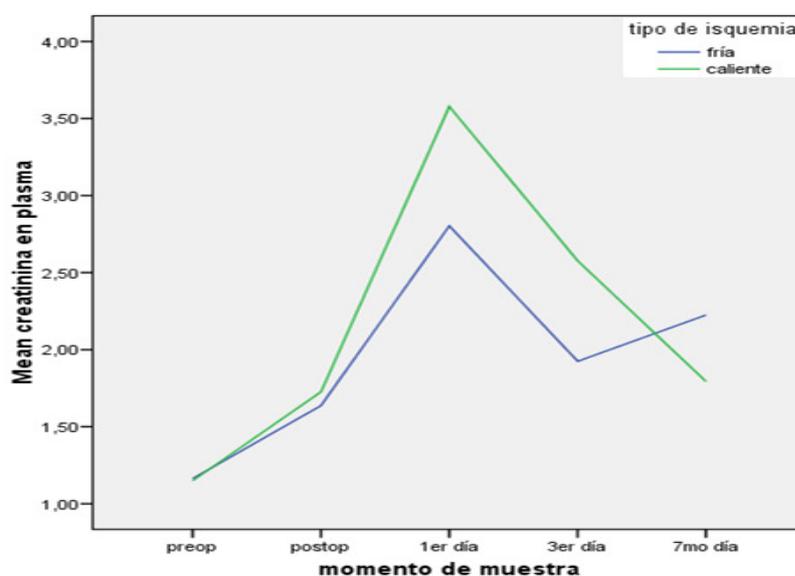


gráfico 1. Creatinina-isquemia

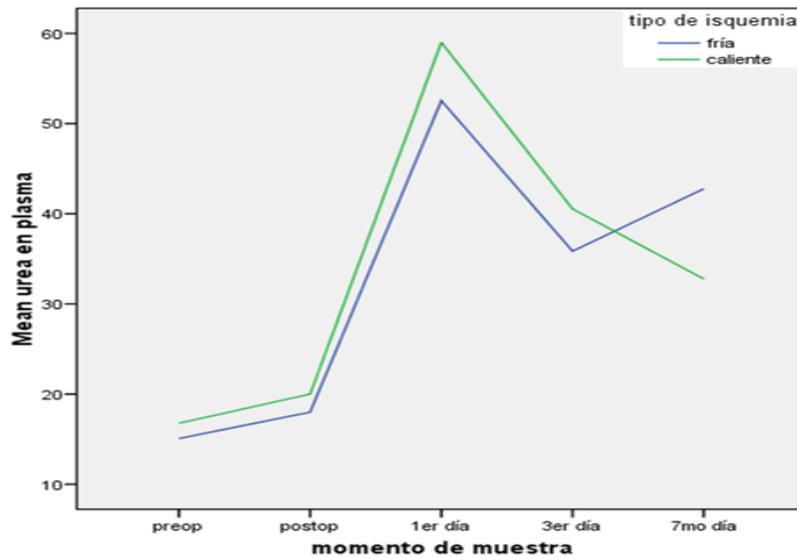


gráfico 2. Urea-isquemia

6.2.2 Valoración en función del género.

En cuanto al sexo se evidenció una media menor en los valores de creatinina (gráfico 3) y urea (gráfico 4) en los machos, pero presentando de igual manera que con la isquemia, una inversión de los valores a partir del tercer día postoperatorio, favoreciendo desde entonces la recuperación bioquímica a las hembras.

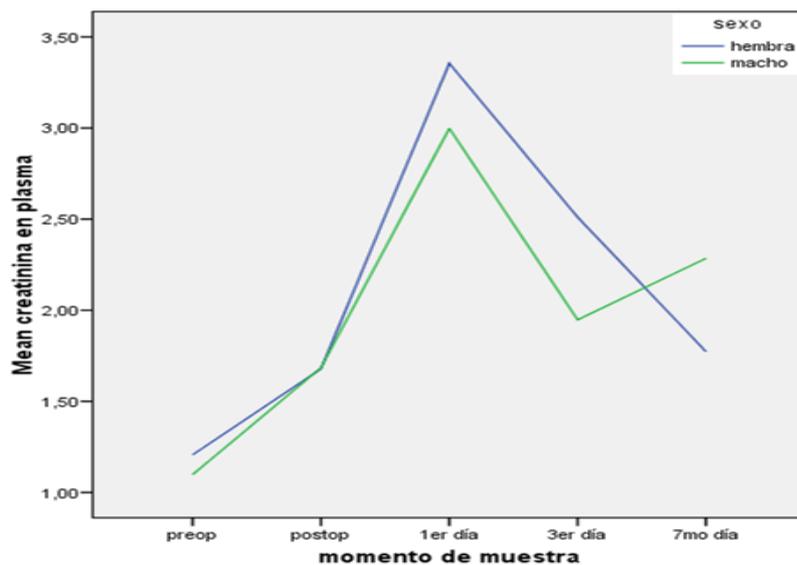


gráfico 3. Creatinina-sexo

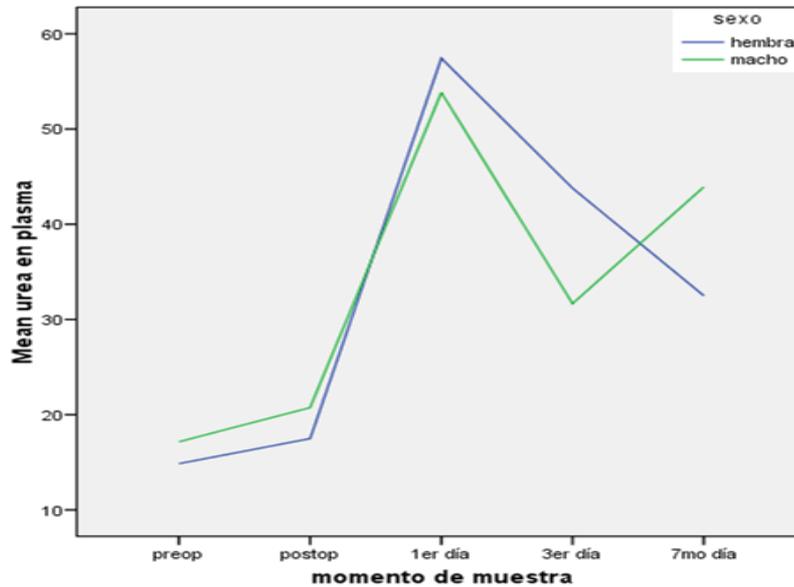


gráfico 4. Urea-sexo

6.3 Resultados anatómo-patológicos.

Desde el punto de vista anatómo-patológico, no se evidenció ningún caso de atrofia tubular ni de fibrosis intersticial.

6.3.1 Valoración del daño tubular.

En relación al género, en la muestra basal no se evidenciaron alteraciones estructurales. Tras la isquemia, ambos grupos presentaron afectación únicamente del tipo leve ($p > 0,05$) (gráfico 5), mientras que tras la reperfusión, se evidenciaron diferencias no significativas a favor de un mayor daño leve en las hembras (93%), y los machos como grupo presentaron mayor afectación de tipo moderado (30%) (gráfico 6). A la semana de la cirugía, prácticamente todos los animales presentaban recuperación o daño leve, salvo 1 macho que presentaba alteración de tipo moderada ($p > 0,05$) (gráfico 7).

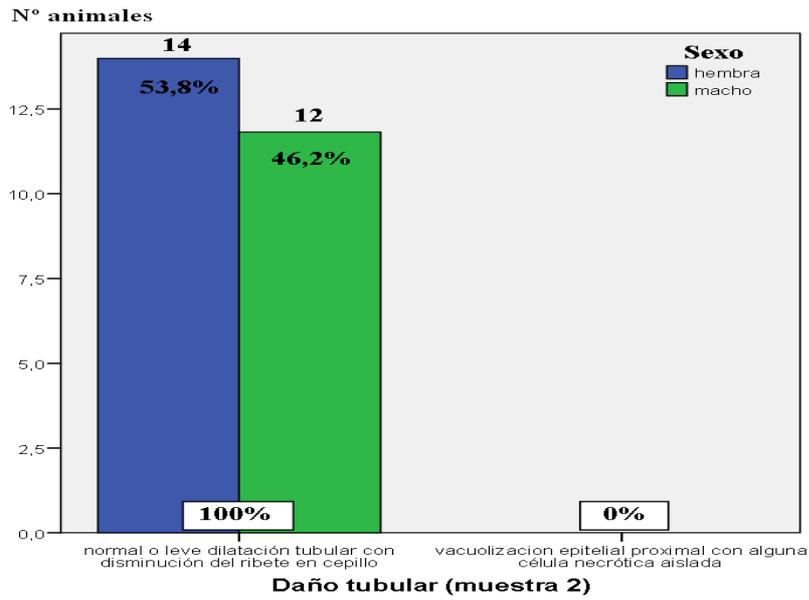


gráfico 5. Lesión tubular-sexo (muestra 2)

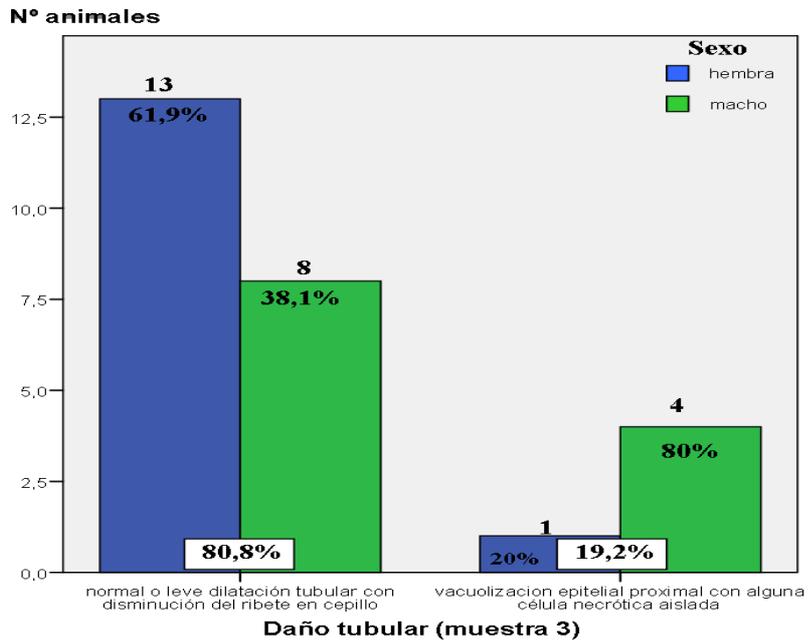


gráfico 6. Lesión tubular-sexo (muestra 3)

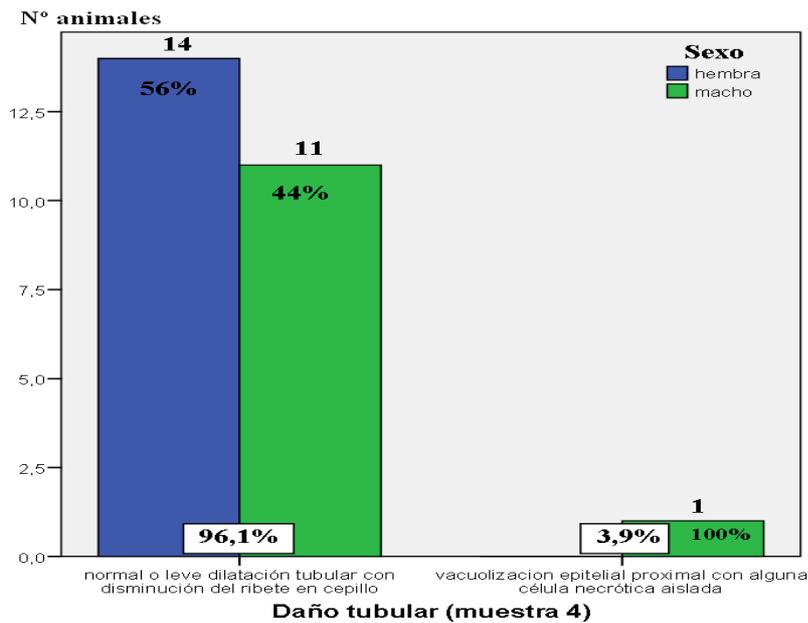


gráfico 7. Lesión tubular-sexo (muestra 4)

Aunque no existieron diferencias de afectación tubular tras la isquemia y reperfusión en cuanto al tipo de isquemia, pues las muestras en su mayoría expresaban afectación del tipo leve (95%), la isquemia caliente presentó 4 casos de afectación moderada en la muestra 3 (el doble que en la isquemia fría), persistiendo de estos 4 solo 1 en la muestra 4.

6.3.2 Valoración del daño intersticial.

En cuanto a la afectación intersticial en función del género, las muestras basales no presentaron alteraciones. Tras la isquemia y la reperfusión, los machos presentaron más casos de infiltración leve, mientras que las hembras tenían un mayor porcentaje de afectación

moderada, pero sin que estas diferencias fueran significativas (gráfico 8 y gráfico 9).

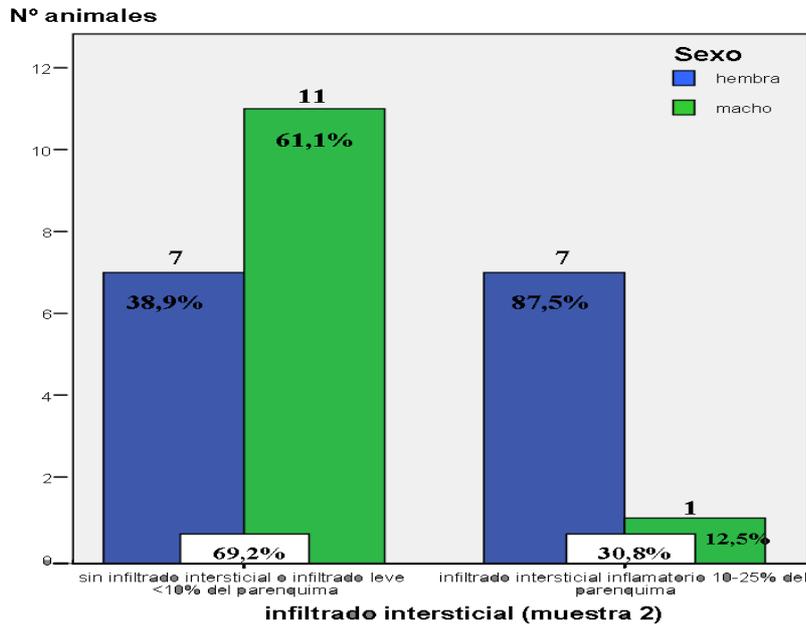


gráfico 8. Lesión intersticial-sexo (muestra 2)

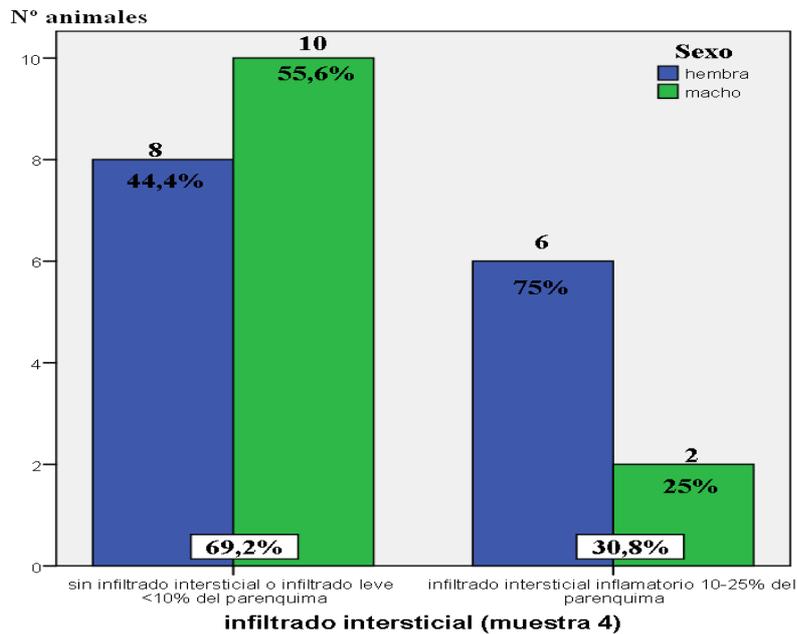


gráfico 9. Lesión intersticial-sexo (muestra 4)

En relación al tipo de isquemia, tampoco se encontraron alteraciones en las muestras basales. La isquemia fría presentó

mayor afectación intersticial del tipo leve tras la isquemia y a la semana de la cirugía, mientras que el porcentaje de casos de infiltración moderada fue mayor para la isquemia caliente, sin que estas diferencias fuesen estadísticamente significativas (gráfico 10 y gráfico 11).

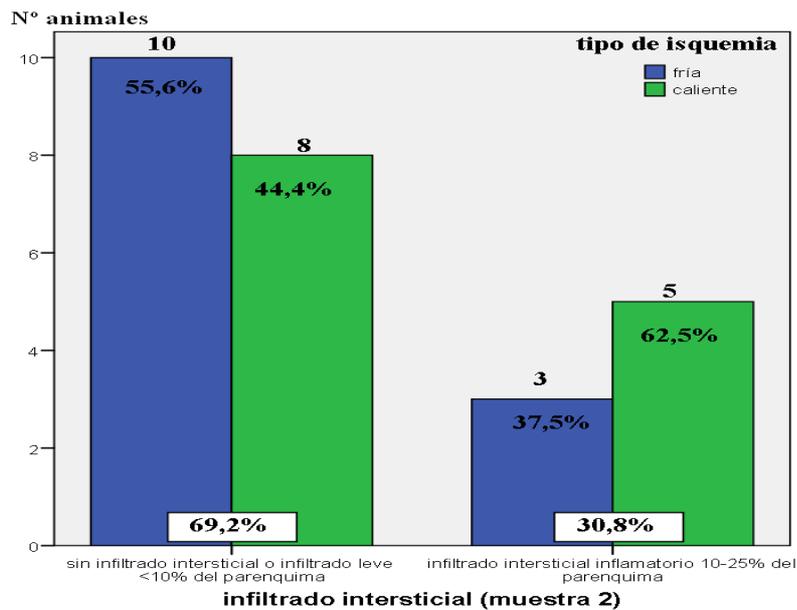


gráfico 10. Lesión intersticial-isquemia (muestra 2)

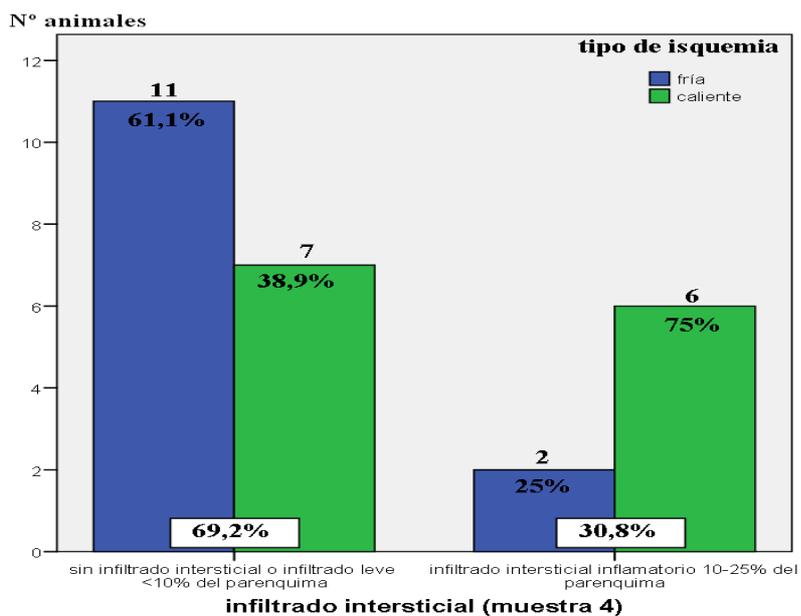


gráfico 11. Lesión intersticial-isquemia (muestra 4)

7. DISCUSIÓN.

La cirugía renal ha presentado una importante evolución desde sus inicios, pasando de realizarse nefrectomías radicales mediante cirugía abierta, con grandes heridas quirúrgicas, importantes complicaciones, y largos períodos de estancia hospitalaria postoperatoria,^{1,3} hasta la actualidad, donde se realizan procedimientos de cirugía mínimamente invasiva, con resecciones parciales o incluso enucleaciones tumorales, en algunos casos mediante isquemia vascular temporal,^{69,70} y en otros inclusive sin la utilización de ningún tipo de isquemia sobre el parénquima renal,^{77,78} con lo cual se ha mejorado en el tratamiento de las patologías quirúrgicas del riñón, disminuyendo la morbi-mortalidad perioperatoria, garantizando la preservación de las unidades renales o del parénquima renal no patológico, y con los mismos resultados para el control oncológico en el caso de las patologías tumorales.³⁰⁻³²

Se ha evidenciado que la evolución de las enfermedades renales y la respuesta del riñón a la isquemia,^{56,57} presenta un comportamiento diferente, favoreciendo los procedimientos que se realizan bajo isquemia fría, a un menor daño y una más rápida recuperación renal postisquemica, pues la hipotermia ayuda a disminuir la actividad metabólica, por lo cual las células reducen sus requerimientos energéticos durante el periodo de isquemia, sufriendo menos stress celular.^{58,59}

Por otra parte, el género parece jugar a su vez un rol importante en las patologías renales⁷⁹ y la recuperación renal postisquémica, encontrándose asociación entre múltiples procesos del metabolismo celular, y la acción de los esteroides sexuales. Existe cada vez más evidencia de la influencia que las hormonas sexuales tienen en la tolerancia al daño renal, así mientras que la presencia de estrógenos confiere cierta protección frente al daño producido por la isquemia, parece que los andrógenos pueden desarrollar algún papel en la producción de dicho daño,⁸²⁻⁸⁴ estando las hormonas sexuales en relación con la activación y la regulación de la cadena de eventos de inflamación celular y la apoptosis.^{86,87}

El estudio que hemos realizado, pretende comprobar en un modelo animal extrapolable a humanos, los efectos que el tipo de isquemia utilizada durante la nefrectomía parcial, pueda tener sobre la lesión producida por la isquemia-reperfusión. Así también, evidenciar la influencia que el género pudiera tener sobre la aparición de dichas lesiones.

Cuando analizamos la evolución funcional bioquímica (urea y creatinina) de los 4 subgrupos por separado, encontramos que pese a lo esperado, las hembras tenían un empeoramiento en los valores postoperatorios hasta después del tercer día cuando estas presentaban mejorías. Por el contrario, los machos pese a presentar inicialmente valores más bajos, a partir del tercer día postoperatorio empeoraban en comparación con las hembras. De estos datos

podemos extraer que si el sexo tiene influencia en el mantenimiento y recuperación de la función renal, y en nuestro estudio parece beneficiar inicialmente a los machos.

En cuanto al tipo de isquemia utilizada, nuestros resultados son acordes a lo expuesto en la literatura, evidenciando que la isquemia fría condiciona menor alteración de los parámetros bioquímicos postisquemia, y favorece una recuperación más precoz de los mismos.

Desde el punto de vista anatómico-patológico, las lesiones tubulares producidas por la isquemia, parecen ser principalmente de tipo leve en ambos subgrupos, con casos aislados de afectación moderada producidos por la isquemia caliente. La afectación del intersticio renal, presentó mayor afectación moderada cuando la isquemia era caliente, y leve en los casos de isquemia fría, lo cual confiere un efecto protector a esta última.

El género por su parte demostró, aunque sin significación estadística, que las hembras tenían lesiones tubulares del tipo leve tras la reperfusión, mientras que en los machos estas lesiones eran de tipo moderado, ocurriendo lo contrario en cuanto a la afectación del intersticio.

8. CONCLUSIONES.

1. Globalmente podemos concluir que tanto el tipo de isquemia como el género, tienen un efecto sobre el daño renal que se produce durante la nefrectomía parcial en el modelo experimental de isquemia-reperfusión utilizado.

2. Las diferencias encontradas no fueron estadísticamente significativas, probablemente por la muestra con la cual se trabajó.

3. Se evidenciaron diferencias histológicas, en la intensidad del infiltrado intersticial a favor de la isquemia fría y de los machos.

4. Por el contrario, el daño de los túbulos proximales en función del sexo favoreció a las hembras, y aunque no se encontraron importantes diferencias, la isquemia caliente presentó algún caso aislado de lesión de tipo moderado.

5. La evolución bioquímica de la función renal fue similar en ambos grupos, aunque se observó una tendencia a la recuperación más favorable para las hembras y en los casos de isquemia fría.

9. BIBLIOGRAFÍA.

1. Moll F. The surgeon and his intention: Gustav Simon (1824-1876), his first planned nephrectomy and further contributions to urology. *World J Urol.* 1999;17:162-167.
2. Novick A. Surgery of the kidney. In: Walsh PC, Retik AB, Vaughan JED, Wein AJ, eds. *Campbell's Urology: 7 ed.* WB Saunders; 1998:2973-3061.
3. Poletajew S. Kidney Removal The Past, Presence, and Perspectives A Historical Review. *Urol J.* 2010;7:215-223.
4. Cohen J. Sir William Hingston. *Can J Surg.* 1996;39:422-427.
5. Herr HW. A history of partial nephrectomy for renal tumors. *J Urol.* 2005;173:705-708.
6. Heinzman SE. Joseph Lister (1827-1912). *Am Surg.* 1994;60:300-301.
7. Zajackowski T. Johann Anton von Mikulicz-Radecki (1850-1905). A pioneer of gastroscopy and modern surgery: his credit to urology. *World J Urol.* 2008;26:75-86.
8. Zimmermann M. Life and work of the surgeon Ernst von Bergmann (1836-1907), long-term editor of the "Zentralblatt für Chirurgie". *Zentralbl Chir.* 2000;125:552-560.
9. Tewari M. "The professor", William Steward Halsted: A legend. tspace.library.utoronto.ca. 2004.
10. Justesen D. Arsène Jacques d'Arsonval: A brief history. *Bioelectromagnetics.* 1985;6:111-114.

11. Berg A. Malignant hypernephroma of the kidney, its clinical course and diagnosis, with a description of the author's method of radical operative cure. *Surg Gynecol Obstet.* 1913;17:463-741.
12. Dietz U. On the 100th Anniversary of Sterile Catgut Kuhn: Franz Kuhn (1866–1929) and the Epistemology of Catgut Sterilization. *World J Surg.* 2007; 31:2275-2283.
13. Giangrande P. The history of blood transfusion. *Br J Haematol.* 2000; 110:758-767.
14. Fleming A. On the antibacterial action of cultures of *Penicillium*, with special reference to their use in silation of *H influenzae*. *Br J Exp Path.* 1929; 10:226.
15. Gregoire R. Les propagations du cancer du rein. *Bull Med Soc Anat (Paris).* 1903; 78:764.
16. Goldstein A, Abeshouse B. Partial resections of the kidney. A report of 6 cases and a review of the literature. *J Urol.* 1937; 38:15.
17. Semb C. Renal tuberculosis and its treatment by partial resection of the kidney. *Acta Chir Scand.* 1949 Sep 3;98(3-6):457–475.
18. Dufour A. Partial nephrectomy. *J Urol Med Chir.* 1951;57(10):637-657.
19. Vermooten V. Indications for conservative surgery in certain renal tumors: a study based on the growth pattern of the clear cell carcinoma. *J Urol.* 1950; 64: 200.
20. Bell E. A classification of renal tumors with observations on the frequency of the various types. *J Urol.* 1938; 39: 238.

21. Fleming J, Ward-McQuid N. Partial nephrectomy for renal adenocarcinoma in a solitary kidney. *Br J Urol.* 1963; 36: 313.
22. Robson C. Radical nephrectomy for renal cell carcinoma. *J Urol,* 1963; 89: 37.
23. Geyer J, Poutasse E. Incidence of multiple renal arteries on aortography. Report of a series of 400 patients, 381 of whom had arterial hypertension. *JAMA.* 1962 Oct 13;182:120-125.
24. Kerr W. Renal hypothermia. *J Urol.* 1960 Aug;84:236-242.
25. Klotz P. Results of partial nephrectomy. *J Urol.* 1960 Oct;84:521-526.
26. Wickham J. Conservative renal surgery for adenocarcinoma. The place of bench surgery. *Br J Urol.* 1975; 47: 25.
27. Puigvert A. Partial nephrectomy for renal tumours: 21 cases. *Eur Urol.* 1976; 2: 70.
28. Novick A. Partial nephrectomy in the treatment of renal adenocarcinoma. *J Urol.* 1977; 118: 932.
29. Marberger M. Conservative surgery of renal carcinoma: the EIRSS experience. *Br J Urol.* 1981; 53:528.
30. Licht M, Novick A. Nephron sparing surgery for renal cell carcinoma. *J Urol.* 1993;149:1-7.
31. Herr H. Partial nephrectomy for unilateral renal carcinoma and a normal contralateral kidney: 10-year followup. *J Urol.* 1999 Jan;161(1):33-34.

32. Fergany A. Long-term results of nephron sparing surgery for localized renal cell carcinoma: 10-year followup. *J Urol.* 2000 Feb;163(2):442-445.
33. Clayman R. Laparoscopic nephrectomy: initial case report. *J Urol.* 1991;146:278-282.
34. Gaur D. Laparoscopic operative retroperitoneoscopy: use of a new device. *J Urol.* 1992;148:1137-1139.
35. Gaur D. Retroperitoneal laparoscopic nephrectomy: initial case report. *J Urol.* 1993;149:103-105.
36. Partin A. Complete robot-assisted laparoscopic urologic surgery: a preliminary report. *J Am Coll Surg.* 1995;181:552-557.
37. Guillonneau B. Robot assisted laparoscopic nephrectomy. *J Urology.* 2001;166:200-201.
38. Shapiro E. The role of nephron-sparing robotic surgery in the management of renal malignancy. *Curr Opin Urol.* 2009;19:76-80.
39. Wang A. Robotic partial nephrectomy versus laparoscopic partial nephrectomy for renal cell carcinoma: single-surgeon analysis of >100 consecutive procedures. *Urology.* 2009;73:306-310.
40. Ho H. Robotic-assisted laparoscopic partial nephrectomy: surgical technique and clinical outcomes at 1 year. *BJU Int.* 2009;103:663-668.
41. Kommu S. Laparo-endoscopic single-site surgery: preliminary advances in renal surgery. *BJU Int.* 2009;103:1034-1037.

42. Cherullo E. Vaginal specimen extraction following laparoscopic radical nephrectomy—the technique. *J Urol.* 2001;165.
43. Gettman M. Transvaginal laparoscopic nephrectomy: development and feasibility in the porcine model. *Urology.* 2002;59:446-450.
44. Branco A. Hybrid transvaginal nephrectomy. *Eur Urol.* 2008;53:1290-1294.
45. Kaouk J. Pure natural orifice transluminal endoscopic surgery (NOTES) transvaginal nephrectomy. *Eur Urol.* 2010;57:723-726.
46. Gilbert B. Urologist view of renal pathophysiology (part I). AUA update series. 1988, lesson 25, vol VII.
47. Collins G. Adenine nucleotide levels in preserved and ischemically injured canine kidneys. *World J Surg.* 1977;1:237-243.
48. Collste H. ATP in cortex of canine kidneys undergoing hypothermic storage. *Life Science.* 1971;10:1201-1209.
49. Novick A. Renal hypothermia: in vivo and ex vivo. *Urol Clin North Am.* 1983; 10(4):637-644.
50. McDougal W. Renal perfusion/reperfusion injuries. *J Urol.* 1988;140(6):1325-1330.
51. McDougal W. The diagnosis, management and pathophysiology of acute renal failure in surgical patients. AUA update series. 1985, lesson 7, vol IV.
52. Silva P. Energy and fuel substrate metabolism in the kidney. *Semin Nephrol* 1990; 10: 432.

53. Simmons M. Surgical Renal Ischemia: A Contemporary Overview. *J Urol.* 2008; Vol. 180, 19-30.
54. Sheridan AM. Cell biology and molecular mechanisms of injury in ischemic acute renal failure. *Curr Opin Nephrol Hypert* 2000;9: 427.
55. Devarajan P. Update on Mechanisms of Ischemic Acute Kidney Injury. *J Am Soc Nephrol.* 2006; 17: 1503–1520.
56. Stueber P. Regional hypothermia in acute renal ischemia. *J Urol.* 1958; 79:793.
57. Wickham J. Regional renal hypothermia. *Br J Urol.* 1967; 39:727.
58. Harvey R. Effect of temperature on function of isolated dog kidney. *Am J Phys.* 1959; 197:181.
59. Levy M. Oxygen consumption and blood flow in the hypothermic perfused kidney. *Am J Phys.* 1959; 197: 1111.
60. Ward J. Determination of the optimum temperature for the regional renal hypothermia during temporary renal ischemia. *Br J Urol.* 1975; 47(1):17-24.
61. Cort J. The effect of temperature on the transport of sodium and potassium by kidney cortex slices. *J Physiol.* 1958; 142:208.
62. Luttrup W. Study of glomerulas and tubular function after in situ cooling of the kidney. *J Urol.* 1976; 115:133-135.
63. Jablonski P. An experimental model for assessment of renal recovery from warm ischemia. *Transplantation* 1983; 35: 198.

64. Orvieto M. Defining maximal renal tolerance to warm ischemia in porcine laparoscopic and open surgery model. *Urology* 2005; 66: 1111.
65. Tsuji Y. An experimental model for unilateral ischaemic acute renal failure in dog. *Int Urol Nephrol* 1993; 25: 83.
66. Laven B. Renal tolerance to prolonged warm ischemia time in a laparoscopic versus open surgery porcine model. *J Urol* 2004; 172: 2471.
67. Myers B. Nature of the renal injury following total renal ischemia in man. *J Clin Invest* 1984; 73:329.
68. Desai M. The impact of warm ischaemia on renal function after laparoscopic partial nephrectomy. *BJU Int* 2005; 95:377.
69. Gill I. Comparison of 1,800 laparoscopic and open partial nephrectomies for single renal tumors. *J Urol* 2007; 178: 41.
70. Fergany A. Open partial nephrectomy for tumor in a solitary kidney: experience with 400 cases. *J Urol* 2006; 175: 1630.
71. Gill I. Laparoscopic partial nephrectomy in solitary kidney. *J Urol* 2006; 175: 454.
72. Thompson R. Complications of contemporary open nephron sparing surgery: a single institution experience. *J Urol* 2005;174:855–858.
73. Lane B. Factors predicting renal functional outcome after partial nephrectomy. *J Urol* 2008;180:2363–2368.

74. Thompson R. The impact of ischemia time during open nephron sparing surgery on solitary kidneys: a multi-institutional study. *J Urol* 2007;177:471–476.
75. Becker F. Assessing the impact of ischaemia time during partial nephrectomy. *Eur Urol* 2009;56:625–635.
76. Thompson R. Every Minute Counts When the Renal Hilum Is Clamped During Partial Nephrectomy. *Eur Urol*. 2010;58:340–345.
77. Thompson R. Comparison of Warm Ischemia Versus No Ischemia During Partial Nephrectomy on a Solitary Kidney. *Eur Urol*. 2010; 58:331-336.
78. Gill I. “Zero Ischemia” Partial Nephrectomy: Novel Laparoscopic and Robotic Technique. *Euro Urol*. 2011; 59:128-134.
79. Duff G. Bilateral cortical necrosis of the kidneys. *Am J Med Sci* 1941;201:429–450.
80. Laszlo F. The effects of oestrogen, ACTH and cortisone administration and hypophysectomy on histological changes induced by unilateral renal pedicle clamping. *Br J Exp Pathol* 1973;54:306–311.
81. Rassat J. Kidney tubule cell injury of male rats after estrogen treatment. *Exp Pathol* 1983;23:35–44.
82. Metcalfe P. Sex Differences and the Role of Sex Steroids in Renal Injury. *J Urol*. 2006; 176, 15-21.

83. Park K. Testosterone is responsible for enhanced susceptibility of males to ischemic renal injury. *J Biol Chem*,2004; 279: 52282.
84. Verzola D. Testosterone promotes apoptotic damage in human renal tubular cells. *Kidney Int*, 2004; 65:1252.
85. Heyman S. Animal models of acute tubular necrosis. *Curr Opin Crit Care* 2002;8:526–534.
86. Hutchens M. Renal ischemia: Does sex matter?. *Int Anest Res Soc*. 2008; 107(1):239-249.
87. Kher A. Cellular and molecular mechanisms of sex differences in renal ischemia-reperfusion injury. *Cardiovasc Res* 2005;67:594–603.
88. Bojar H. Identification and partial characterization of specific oestrogen-binding components in human kidney. *J Clin Chem Clin Biochem* 1976;14:515–520.
89. Munger K. Sex differences in renal hemodynamics in rats. *Am J Physiol* 1988;254:223–231.
90. Koenig H. Testosterone mediated sexual dimorphism of mitochondria and lysosomes in mouse kidney proximal tubules. *Science* 1980;209:1023–1026.
91. Muller V. Sexual dimorphism in renal ischemia-reperfusion injury in rats: possible role of endothelin. *Kidney Int* 2002;62:1364–1371.
92. Bonventre J. Recent advances in the pathophysiology of ischemic acute renal failure. *J Am Soc Nephrol*. 2003;14:2199–2210.
93. Conger J. Abnormal vascular function following ischemia-reperfusion injury. *J Investig Med* 1995;43:431–442.

94. Flores J. The role of cell swelling in ischemic renal damage and the protective effect of hypertonic solute. *J Clin Invest* 1972;51:118–126.
95. Brodsky S. Endothelial dysfunction in ischemic acute renal failure: rescue by transplanted endothelial cells. *Am J Physiol Renal Physiol* 2002;282:1140–1149.
96. Noiri E. In vivo targeting of inducible NO synthase with oligodeoxynucleotides protects rat kidney against ischemia. *J Clin Invest* 1996;97:2377–2383.
97. Ling H. Attenuation of renal ischemia-reperfusion injury in inducible nitric oxide synthase knockout mice. *Am J Physiol* 1999;277:383–390.
98. Chatterjee P. Inhibition of inducible nitric oxide synthase reduces renal ischemia/reperfusion injury. *Kidney Int* 2002;61:862–871.
99. Neugarten J. Sex hormones and renal nitric oxide synthases. *J Am Soc Nephrol* 1997;8:1240–1246.
100. Reckelhoff J. Gender differences in the renal nitric oxide (NO) system: dissociation between expression of endothelial NO synthase and renal hemodynamic response to NO synthase inhibition. *Am J Hypertens* 1998;11:97–104.
101. Mukundan H. 17-beta estradiol independently regulates erythropoietin synthesis and NOS activity during hypoxia. *J Cardiovasc Pharmacol* 2004;43:312–317.

102. Takaoka M. Oestrogen protects against ischaemic acute renal failure in rats by suppressing renal endothelin-1 overproduction. *Clin Sci (Lond)* 2002;103(48):434–437.
103. Burne-Taney M. Acute renal failure after whole body ischemia is characterized by inflammation and T cell-mediated injury. *Am J Physiol Renal Physiol* 2003;285:87–94.
104. Ysebaert D. T cells as mediators in renal ischemia/reperfusion injury. *Kidney Int* 2004;66:491–496.
105. Dobashi K. Kidney ischemia-reperfusion: modulation of antioxidant defenses. *Mol Cell Biochem* 2000;205:1–11.
106. Kelly K. Induction of stress response proteins and experimental renal ischemia/reperfusion. *Kidney Int* 2001;59:1798–1802.
107. Yamanobe T. Deterioration of ischemia/reperfusion-induced acute renal failure in SOD1-deficient mice. *Free Radic Res* 2007;41:200–207.
108. Fekete A. Sex differences in the alterations of Na⁺K⁺ATPase following ischaemia reperfusion injury in the rat kidney. *J Physiol* 2004;555:471–480.
109. Kim J. Orchiectomy attenuates post-ischemic oxidative stress and ischemia/reperfusion injury in mice. A role for manganese superoxide dismutase. *J Biol Chem* 2006;281:20349–56.
110. Voss M. Gender differences in the expression of heat shock proteins: the effect of estrogen. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2003;285:687–692.

111. Fekete A. Sex differences in heat shock protein 72 expression and localization in rats following renal ischemia reperfusion injury. *Am J Physiol Renal Physiol* 2006; 291:806–811.
112. Park K. Orchiectomy reduces susceptibility to renal ischemic injury: a role for heat shock proteins. *Biochem Biophys Res Commun* 2005;328:312–317.
113. Edelstein CL. Role of caspases in hypoxia induced necrosis of rat renal proximal tubules. *J Am Soc Nephrol* 1999;10:1940–1949.
114. Feldenberg L. Partial ATP depletion induces Fas- and caspase mediated apoptosis in MDCK cells. *Am J Physiol*1999;276:837–846.
115. Castaneda M. Activation of mitochondrial apoptotic pathways in human renal allografts after ischemia reperfusion injury. *Transplantation* 2003;76:50–54.
116. Johnson G. Mitogen-activated protein kinase pathways mediated by ERK, JNK, and p38 protein kinases. *Science* 2002;298:1911–1912.
117. Pombo C. The stress-activated protein kinases are major c-Jun amino-terminal kinases activated by ischemia and reperfusion. *J Biol Chem* 1994;269:26546–51.
118. Park KM, Chen A, Bonventre JV. Prevention of kidney ischemia/reperfusion-induced functional injury and JNK, p38, and MAPK kinase activation by remote ischemic pretreatment. *J Biol Chem* 2001;276:11870–6.

119. Hashiguchi H. Isoflurane protects renal function against ischemia and reperfusion through inhibition of protein kinases, JNK and ERK. *Anesth Analg* 2005;101:1584–9.

120. Wang Y. SP600125, a selective JNK inhibitor, protects ischemic renal injury via suppressing the extrinsic pathways of apoptosis. *Life Sci* 2007;80:2067–75.

10. ANEXOS.

Anexo 1. Ficha quirúrgica del experimento.

No Experimento, sexo, peso del animal y tipo de isquemia:

Fecha primer tiempo quirúrgico:

Cirujanos:

Hora inicio anestesia :

Hora inicio canulación:

Hora final canulación:

Hora inicio de la cirugía:

Inicio del neumó:

Final del neumó:

Presión: mmHg

Hora inicio laparotomía:

Características riñón: arteria vena uréter

Hora inicio isquemia:

Hora final isquemia:

Hora biopsia postisquemia:

Hora final sutura parénquima:

Hora biopsia postreperfusión:

Hora final IQ:

Hora extubación:

Observaciones:

Segundo tiempo quirúrgico:

Fecha:

Observaciones/aspecto del riñón:

Anexo 2. Ficha de evolución intraoperatoria.

CIRUGIA EXPERIMENTAL / FECHA:

CONTROL - ANESTESIA

Inicio MPA:

Inicio Induccion:

Inico Mantenimiento:

Inicio Cirugia:

FASES				
HORA				
TEMPERATURA				

FC				
PAP				
PVC				
Flujo A.hepatica				
Flujo V.porta				
DIURESIS ml				

PH				
PCO2				
PO2				
SaO2				
HCO3				
Htc				
Na+				
K+				
Ca				
Glucosa				
Urea				
Creatinina				

Sangrado				
Cristaloides				
Coloides				
Sangre				

Anexo 3. Ficha de seguimiento postoperatorio.

Características:	Día 1	2	3	4	5	6	7
Aspecto general: bueno/regular/comatoso							
Postura: normal/anormal(encurvado)/tumbado							
Come: si/no							
Bebe: si/no							
Heces: si/no (aspecto)							
Estado de las suturas: bueno/regular/malo							
Hemorragias: si/no							
Vocalizaciones: no/si(tipo, durante la palpación)							
Movilidad: buena/regular/mala							
Comportamiento ante estímulos externos: Alerta/se deja tocar/arreactivo							
Tª rectal: normal/hipotermia/hipertermia							
Tiempo de perfusión gingival: <1-2"/1-2"/>1-2"							
Color de las mucosas ocular y bucal: rosadas/blanquecina/violáceas							
Frecuencia respiratoria: normal/bradipnea/taquipnea							
Tipo de respiración: normal/forzada							
Ritmo cardíaco: Normal/anormal							
Sangre							
Orina							
Observaciones							