



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE MEDICINA

DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSTGRADO

INSTITUTO NACIONAL DE CARDIOLOGÍA "IGNACIO CHÁVEZ"

**EL EDARAVONE PREVIENE LA NEFROPATÍA Y LA DISFUNCIÓN
ENDOTELIAL INDUCIDA POR MEDIO DE CONTRASTE EN UN MODELO DE
INSUFICIENCIA RENAL AGUDA**

T E S I S

PARA OBTENER EL TÍTULO DE ESPECIALIDAD EN:
NEFROLOGÍA

PRESENTA:

DR. SEVERO MANUEL ABRAHAM MANCILLA

TUTORES DE TESIS

**DRA. MARTHA FRANCO GUEVARA
DRA ROCIO BAUTISTA PÉREZ**



MÉXICO D.F. AGOSTO DE 2009



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

DRA. MARTHA FRANCO GUEVARA
JEFA DEL DEPARTAMENTO DE NEFROLOGÍA
INSTITUTO NACIONAL DE CARDIOLOGÍA
“IGNACIO CHÁVEZ”

DR. JOSÉ FERNANDO GUADALAJARA BOO
DIRECTOR DE ENSEÑANZA
INSTITUTO NACIONAL DE CARDIOLOGÍA
“IGNACIO CHÁVEZ”

DRA. MARTHA FRANCO GUEVARA
TUTOR DE TESIS
INVESTIGADOR EN CIENCIAS MÉDICAS “F”
INSTITUTO NACIONAL DE CARDIOLOGÍA
“IGNACIO CHÁVEZ”

DRA. MARÍA DEL ROCIO BAUTISTA PÉREZ
TUTOR DE TESIS
INVESTIGADOR EN CIENCIAS MÉDICAS “D”
INSTITUTO NACIONAL DE CARDIOLOGÍA
“IGNACIO CHÁVEZ”

DR. SEVERO MANUEL ABRAHAM MANCILLA
ALUMNO DE LA ESPECIALIDAD EN NEFROLOGÍA
INSTITUTO NACIONAL DE CARDIOLOGÍA
“IGNACIO CHÁVEZ”

DEDICATORIA.

A Diana.

Por tu amor y apoyo incondicional. Gracias por tu paciencia y comprensión en los momentos más difíciles; a tu lado he vivido los momentos más importante en mi vida y por ello te dedico no solo este trabajo sino todos los logros de aquí en adelante. Te amo.

A Manuelito.

Tu llegada le ha dado un giro completo a mi vida. Eres la culminación de un inmenso amor; siempre estaré a tu lado apoyándote y dando lo mejor de mí. Espero nunca defraudarte y poder ser un ejemplo a seguir en esta vida que apenas comienzas.

AGRADECIMIENTOS.

A mis padres y hermanos, por todo el cariño y la motivación a lo largo de estos años; siempre serán parte fundamental en mi vida y espero siempre puedan estar orgullosos de mí.

A todos y cada uno de los residentes de Nefrología, quienes siempre me demostraron su compañerismo y lealtad, en especial a mis compañeros de generación: Carmina, Emmanuel, Emilio y Jesús. Con su respaldo y amistad, todos fueron pieza fundamental durante este proceso.

A mis maestros, Dra. Franco, Dra. Madero, Dra. Ávila, Dr. Pérez-Grovas, Dr. Rodríguez, Dr. Herrera y Dr. Hernández, por compartir conmigo su experiencia y conocimiento, así como fomentar en mí el deseo de superación tanto personal como profesional. Mención especial a Alfonso Mariscal y Armando Vázquez, primero como compañeros y posteriormente como adscritos; siempre con la mejor disposición e interés por mi enseñanza.

A mis tutores de tesis, Dra. Martha Franco y Dra. Rocío Bautista, por su paciencia y el haber confiado en mí. Sin su apoyo esta tesis no habría sido posible.

Al Dr. Juan Abraham Bermúdez, un maestro y AMIGO en toda la extensión de la palabra; por sus enseñanzas y apoyo desinteresado desde mi formación como estudiante de Medicina y el haber estimulado mi interés hacia la Medicina Interna y particularmente la Nefrología.

Al Instituto Nacional de Cardiología “Ignacio Chávez”, por permitirme haber llegado hasta estas instancias en mi formación profesional y lograr realizar este sueño.

A Dios, por darme la vida, a mi familia y amigos y permitirme la dicha de ser padre.

ÍNDICE	PÁGINA
MARCO TEÓRICO	7
JUSTIFICACIÓN	32
PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN	33
HIPÓTESIS	33
OBJETIVOS	33
MATERIAL Y MÉTODOS	35
RESULTADOS	40
DISCUSIÓN	49
CONCLUSIONES	54
BIBLIOGRAFÍA	56

EL EDARAVONE PREVIENE LA NEFROPATÍA Y LA DISFUNCIÓN ENDOTELIAL INDUCIDA POR MEDIO DE CONTRASTE EN UN MODELO DE INSUFICIENCIA RENAL AGUDA

MARCO TEÓRICO:

IMPACTO DE LA NEFROPATÍA POR MEDIO DE CONTRASTE.

El empleo de medios de contraste iodados en estudios diagnósticos radiológicos ha sido por mucho tiempo el pilar fundamental en la evaluación de múltiples patologías con las que se enfrenta diariamente el médico, lo cual indica que una gran cantidad de pacientes están expuestos a dichos medios. Esto indica una alta posibilidad de desarrollo de complicaciones derivadas de la toxicidad de tales sustancias. La nefropatía por medio de contraste tiene gran relevancia, por lo que es muy importante el conocimiento a fondo por parte del médico de los posibles problemas asociados a su uso y de las estrategias disponibles para prevenir las complicaciones potenciales.

RESEÑA HISTÓRICA.

Los medios de contraste para radiodiagnóstico se introdujeron en 1918 con el uso de soluciones de sodio iodado. Con el paso de los años se buscó una sustancia

que ofreciera una mejor calidad en las imágenes obtenidas en los estudios al tiempo que presentara mínimos efectos secundarios. En la década de los años 50 fue muy aceptado el empleo de medios iodados de alta osmolaridad (mayor a 1,500 mOsm/Kg), los cuales permitían obtener mejores imágenes; sin embargo, el desarrollo de reacciones de hipersensibilidad hicieron que se desaprobara su uso y motivó a investigadores a continuar en busca de la sustancia ideal¹. El origen de la sensibilidad se atribuyó a la alta osmolaridad; basados en ello en los años 70 se crearon medios sintéticos, siempre asociados con yodo, conocidos como medios iodados iónicos de baja osmolaridad, entre los que se puede mencionar al amidotrizoato, estos medios indiscutiblemente mostraban menos efectos adversos, a pesar de ello, las reacciones alérgicas y el daño renal inducidos por su uso persistieron. En los siguientes años se introdujeron los medios de radiodiagnóstico de baja osmolaridad no iónicos (iohexol, iopamidol, iobitridol), que mostraron una reducción importante en la incidencia de nefrotoxicidad por lo que su uso se hizo más frecuente y en la actualidad se emplean de modo universal². Recientemente han aparecido los medios iso-osmolares entre los que destacan el iotrolan y el iodixanol, de ellos se esperaba que dada la osmolaridad muy cercana a la del plasma (el iodixanol por ejemplo, tiene una osmolaridad de 290 mOsm/kg) los efectos adversos fuesen mucho menos frecuentes; sin embargo, múltiples estudios han demostrado que la incidencia de complicaciones, sobretudo el daño renal continúan siendo importantes, al tiempo que se ha documentado el desarrollo de reacciones de hipersensibilidad tardías (entre 24 horas y una semana) posteriores a la exposición a estas sustancias^{3,4}.

Actualmente existen cuatro tipos de medios de contraste yodados: a) monómeros iónicos, b) dímeros iónicos, c) monómeros no iónicos y d) dímeros no iónicos. Los monómeros poseen un anillo bencénico y los dímeros tienen dos. Se dividen en iónicos (se ionizan en solución) y no iónicos (figura 1).

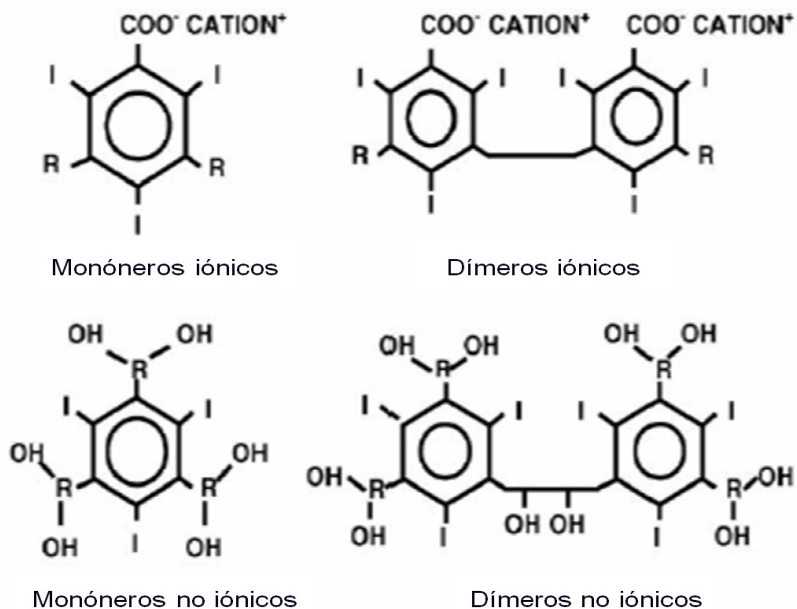


Figura 1. Estructura de los medios de contraste.

FARMACOCINETICA DEL DIATRIZOATO

El Diatrizoato de Sodio es un medio de contraste yodado que contiene 60% de yodo aproximadamente y se emplea para visualizar regiones específicas del sistema vascular y el flujo sanguíneo.

Se distribuye rápidamente a través del fluido extracelular después de la administración intravascular; su unión a proteínas es muy baja teniendo una vida

media de 30 a 60 minutos cuando la función renal es normal, extendiéndose de 20 a 140 horas cuando la función renal está severamente dañada. Se excreta fundamentalmente por el riñón (95 - 100% en 24 horas) aunque también puede ser excretada por la bilis.

Los efectos adversos de los materiales de contraste iónicos resultan de las acciones de 3 factores: la hipertonicidad de la preparación, el cambio iónico y la toxicidad química. Sin embargo, desde la introducción de los diatrizoatos se ha comprobado la escasa toxicidad de sus sales sódica y meglumínica, tanto aisladas como en mezclas en diferentes proporciones, lo que indica que la naturaleza del catión no influye sobre los efectos tóxicos.

NEFROPATÍA POR MEDIO DE CONTRASTE

No existe un consenso en cuanto a la definición de nefrotoxicidad inducida por medios de contraste. La definición más comúnmente aceptada es la establecida por la Sociedad Europea de Radiología Urogenital mencionada en las guías de administración de medios de contraste para radiodiagnóstico, la cual define la nefrotoxicidad por medios de contraste como la elevación de la creatinina sérica de 0.5 mg /dL ó 25% del valor previo en los siguientes 3 días de la administración de medio de contraste, en la ausencia de otra causa que explique el deterioro en la función renal⁵. Idealmente, el deterioro de la función renal puede ser determinado por la medición seriada de la depuración de creatinina, sin embargo, esto no es posible de realizar en todos los hospitales por lo que se basa en el monitoreo de los niveles de creatinina sérica; el problema es que en los casos de

insuficiencia renal pre-existente, la secreción tubular de creatinina puede llegar a disminuir o sobreestimar la filtración glomerular.

Una elevación relativa de la creatinina entre el 25 - 50% o absoluta de 0.5 - 1 mg/dl, o una combinación de ambas, han sido sugeridas para definir a la nefropatía por medio de contraste⁶.

EPIDEMIOLOGÍA.

La incidencia de nefropatía por medio de contraste reportada en estudios en los que se incluían pacientes con daño renal preexistente o diabetes mellitus y sin haber recibido profilaxis mediante hidratación, oscila entre un 12 - 26%. En pacientes sin estos factores de riesgo se ha reportado una menor incidencia (3.3%)⁷.

FACTORES DE RIESGO.

Los medios de contraste causan un ligero incremento en los niveles de creatinina en la mayoría de los pacientes. Un estudio prospectivo efectuado en 1,077 pacientes sometidos a coronariografía demostró al menos un incremento leve, transitorio y sin significancia clínica de los valores de creatinina en el 73% de los pacientes⁸. Sin embargo, ciertos subgrupos presentan un riesgo alto de desarrollar nefropatía clínicamente significativa⁹. La incidencia de la nefropatía por medio de contraste varía según la población estudiada y depende de la presencia de los siguientes factores de riesgo:

Insuficiencia renal pre-existente: La insuficiencia renal pre-existente es el factor de riesgo más importante para el desarrollo de nefropatía por medio de contraste¹⁰. Incluso una disfunción renal mínima (creatinina > 1.2 mg/dl) aumenta en forma exponencial el riesgo. Por encima de 1.5 mg/dl existe un riesgo 21 veces mayor que en los pacientes con función renal normal¹¹. Pacientes con grados más avanzados de enfermedad renal presentan un riesgo particularmente alto de desarrollar nefropatía por medio de contraste grave con requerimiento de diálisis¹².

Diabetes mellitus: Existe una fuerte asociación entre diabetes, daño renal previo y nefropatía por medio de contraste. Si bien los pacientes diabéticos con función renal conservada presentan bajo riesgo de desarrollar la nefropatía, aquellos con disfunción renal previa poseen un riesgo extremadamente alto¹³.

Volumen y osmolaridad del medio de contraste utilizado: Estudios retrospectivos han sugerido que el volumen del medio de contraste utilizado se correlaciona directamente con el riesgo de desarrollar nefropatía por medio de contraste¹⁴. Un estudio prospectivo asignó a pacientes con creatinina >1.8 mg/dl en dos grupos. En uno de ellos no hubo limitación del volumen y en el otro se limitó según la fórmula: 5 ml de medio de contraste/kg (máx. 300 ml)/ creatinina sérica (mg/dl). Aquellos que recibieron un volumen de medio de contraste limitado presentaron una incidencia significativamente menor de nefropatía¹⁵.

Otros factores de riesgo: Teniendo en cuenta la importancia patogénica de la isquemia medular, algunas condiciones prerrenales, en particular la deshidratación, aumentarían el riesgo de desarrollar nefropatía¹⁶. La insuficiencia cardíaca se ha señalado como un predictor independiente en algunos pero no en todos los estudios⁸. También se ha implicado al mieloma múltiple¹⁷, con la precipitación de proteínas (Bence-Jones y Tamm-Horsfall), la insuficiencia renal y la deshidratación concomitante se han señalado como el potencial mecanismo fisiopatológico.

ESTRATIFICACIÓN DEL RIESGO.

Mehran y colaboradores¹⁸ desarrollaron un método que integra 8 variables clínicas que evalúa en forma simple el riesgo de desarrollar nefropatía por medio de contraste (tabla 1).

La posibilidad de presentar nefropatía, se observó altamente asociada con un incremento en el valor de riesgo: La incidencia fue de 7.5% en los pacientes con valor bajo, mientras que se elevó hasta un 57.3% en aquellos con un valor alto.

PRESENTACIÓN CLÍNICA.

La insuficiencia renal aguda causada por medio de contraste, es habitualmente de tipo no oligúrica y reversible¹⁹. La creatinina se eleva dentro de las 24 - 48 horas posterior al procedimiento, alcanzando un valor pico alrededor del quinto día y retorna a sus valores basales en aproximadamente 7 - 10 días. Sin embargo, en

algunos pacientes los valores de creatinina no regresan a su valor basal e incluso, algunos requieren diálisis transitoria o permanente²⁰.

Tabla 1. Riesgo asignado para desarrollar nefropatía por medio de contraste posterior a cateterismo cardiaco	
Factor de riesgo	Puntaje
Hipotensión	5
Empleo de balón intra-aórtico	5
Insuficiencia cardiaca congestiva	5
Creatinina sérica > 1.5 mg/dl	4
Edad > 75 años	4
Diabetes mellitus	3
Anemia	3
Volumen de medio de contraste	1 por cada 100 ml. empleados
Riesgo	Puntaje total
Bajo	≤ 5
Moderado	6-10
Alto	11-15
Muy alto	>16

PRONÓSTICO.

A pesar de la tasa alta de recuperación de la función renal, las consecuencias de la nefropatía por medio de contraste son importantes, ya que prolonga la estadía hospitalaria y retrasa la realización de procedimientos adicionales que podrían afectar la función renal. Además, el 10 - 25% de los pacientes requieren diálisis; esto ocurre con mayor frecuencia en quienes desarrollan oliguria y hasta el 30% de los pacientes no recuperarán su función renal basal¹².

En un estudio retrospectivo de 183 pacientes que desarrollaron nefropatía por medio de contraste, la mortalidad fue del 34% en comparación con una mortalidad de solamente 7% en el grupo que no desarrolló nefropatía, el cual era similar en edad y función renal previa²¹.

FISIOPATOLOGÍA.

Los medios de contraste inducen una respuesta bifásica: primero un periodo transitorio de vasodilatación (aproximadamente 20 minutos), seguido por un periodo variable de vasoconstricción renal (que va de aproximadamente 20 minutos hasta horas)^{22,23}.

Los mecanismos involucrados en la producción de nefropatía por medio de contraste son tres (figura 2):

- Isquemia medular.
- Nefrotoxicidad directa.
- Obstrucción tubular.

ISQUEMIA MEDULAR.

La médula renal es particularmente sensible al daño isquémico, y los medios de contraste pueden desencadenar hipoxia medular al ocasionar una disminución del flujo en la corteza renal²⁴. Se ha sugerido que el desarrollo de la nefropatía se debe a cambios en la hemodinámica renal, por un lado al incrementar la actividad de vasoconstrictores renales (vasopresina, angiotensina II, dopamina-1, endotelina-1 y adenosina) y además, al disminuir la actividad de sustancias vasodilatadoras (óxido nítrico y prostaglandinas) aumenta la vasoconstricción²⁵. Otros factores que se han implicado en la disminución del flujo sanguíneo renal incluyen el incremento de la viscosidad del medio de contraste, mismo que a su vez induce un incremento en la agregación eritrocitaria, ocasionando una disminución en el aporte de oxígeno²⁶.

NEFROTOXICIDAD DIRECTA.

Los cambios histopatológicos inducidos por el medio de contraste se caracterizan por: vacuolización de las células epiteliales, inflamación intersticial y necrosis celular; estas alteraciones sugieren un efecto tóxico directo a las células del epitelio tubular renal²⁷. La participación de especies reactivas de oxígeno son un factor que contribuye a causar la vacuolización de las células epiteliales en el túbulo proximal²⁸, esto es evidente ya que la producción de radicales libres se incrementa posterior a la administración del medio de contraste, mientras que la infusión de dismutasa de superóxido y alopurinol pueden llegar a disminuir la

producción de radicales libres con lo cual se lograría disminuir la hipoperfusión inducida por el medio de contraste²⁹.

OBSTRUCCIÓN TUBULAR.

Se ha sugerido que la obstrucción tubular puede tener un papel fisiopatológico en algunos pacientes. Los medios de contraste aumentan la excreción de uratos posterior a la exposición. En presencia de deshidratación, estos se precipitarían y llegarían a producir obstrucción intratubular¹².

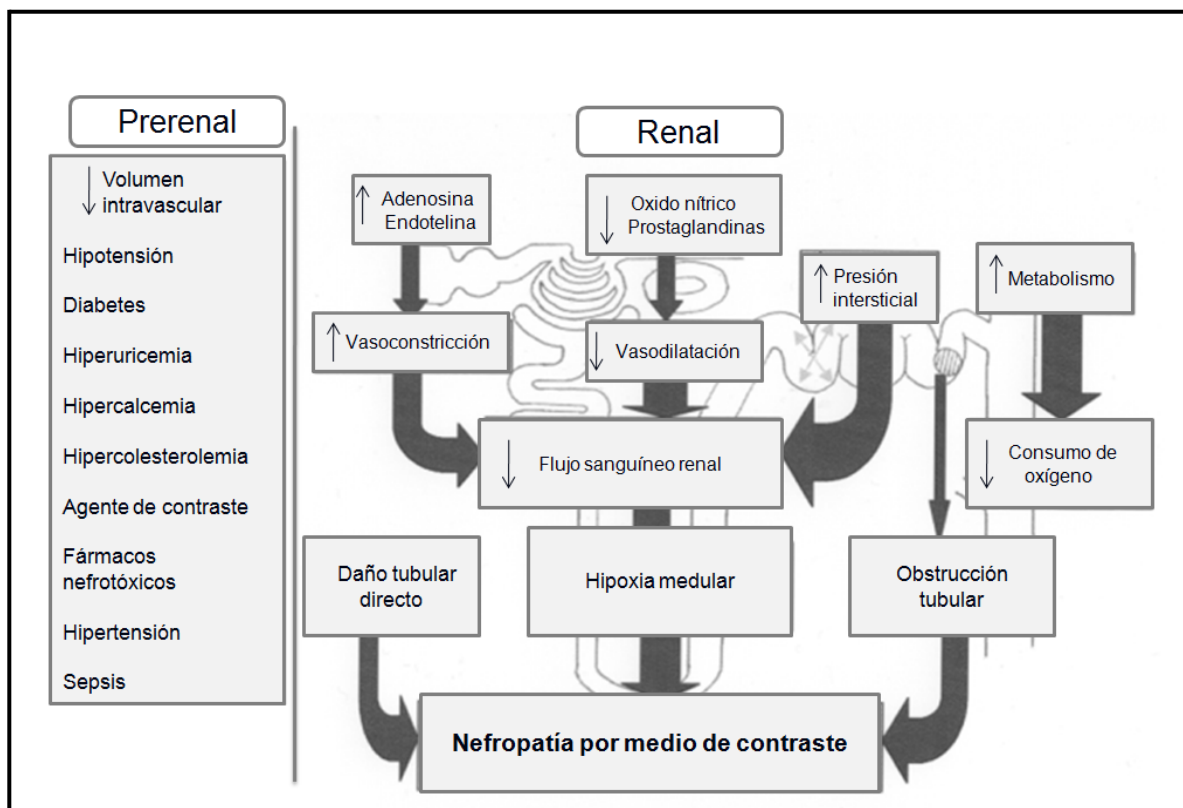


Figura 2. Mecanismos fisiopatológicos propuestos en la nefropatía por medio de contraste.

DISFUNCIÓN ENDOTELIAL

Las estructuras que componen la pared vascular participan activamente en importantes funciones fisiológicas que van a regular tanto el tono vasomotor, como el crecimiento de las células del músculo liso, los procesos de agregación plaquetaria y la coagulación, la permeabilidad vascular y las interacciones de los leucocitos con la pared vascular³⁰.

Las células endoteliales son capaces de detectar cambios de tipo: mecánico (hemodinámicos de la presión sanguínea), químico (presión de oxígeno) y humorales (alteraciones en el equilibrio de los factores circulantes o locales y cambios en sus interacciones con las plaquetas y los leucocitos). El endotelio va a traducir dichos cambios, respondiendo a ellos mediante la síntesis y liberación de numerosos factores biológicamente activos^{31,32}. Entre éstos cabe destacar distintos factores vasoactivos como la prostaciclina, el óxido nítrico, el factor hiperpolarizante derivado del endotelio, el tromboxano A₂ y la endotelina-1 ((tabla 2 y figura 3).

Las células endoteliales también constituyen una fuente de producción de distintas especies reactivas del oxígeno (aniones superóxido, peróxido de hidrógeno) en respuesta a diversos factores de crecimiento como el factor de crecimiento transformante β , el factor de crecimiento endotelial vascular, el factor de crecimiento similar a la insulina, entre otros (figura 4)³³.

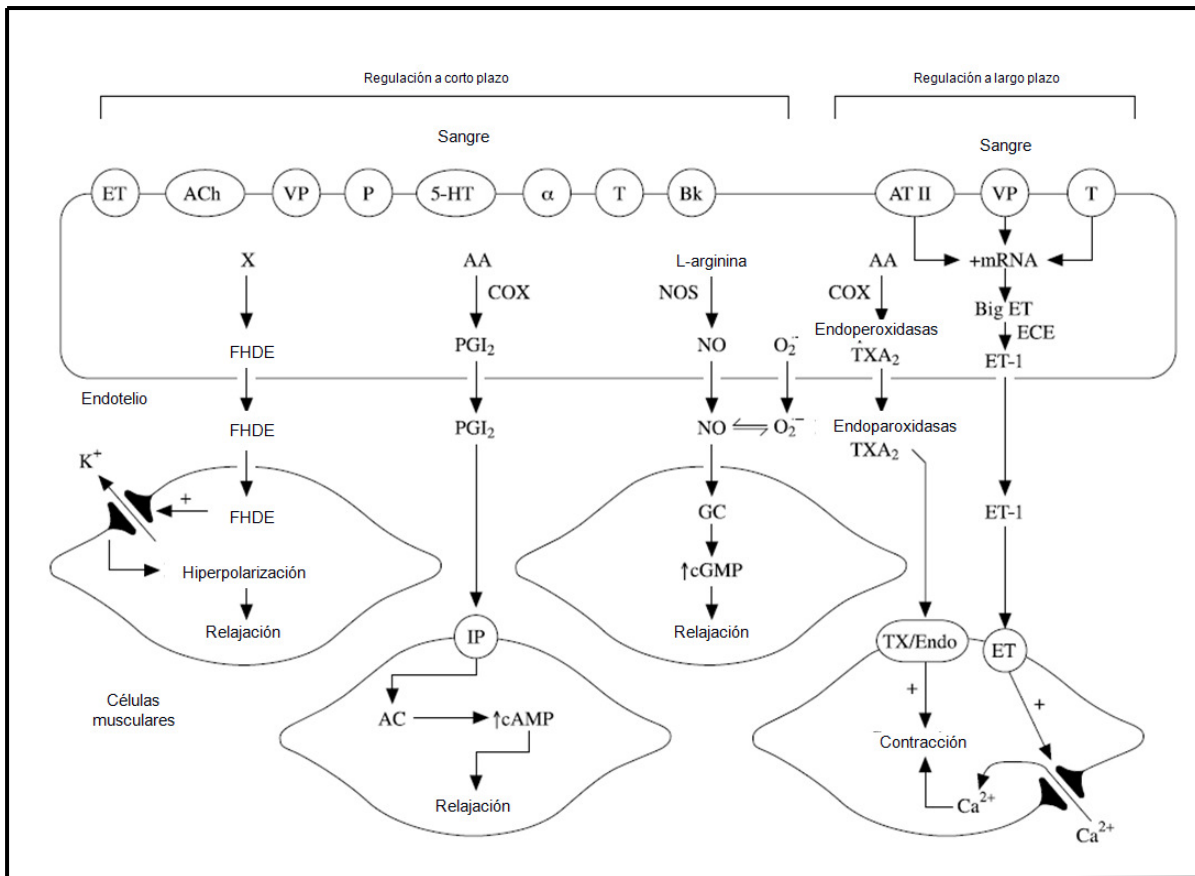


Figura 3. Factores de relajación y contracción derivados del endotelio. α =alfa-adrenérgico; AA=ácido araquidónico; ACh=acetilcolina; ATII=angiotensina II; Bk=bradicinina; COX=cicloxigenasa; ECE=enzima convertidora de endotelina; FHDE=factor hiperpolarizante derivado del endotelio; ET=endotelina-1; 5-HT=5-hidroxitriptamina (serotonina); O₂⁻=aniones superóxido; P=purinas; PGI₂=prostaciclina; ON=óxido nítrico; ONs=sintetasa ON; T=trombina; TXA₂=tromboxano A₂; VP=vasopresina.

Tabla 1. Productos derivados del endotelio	
Vasoconstrictores	Endotelinas 1,2 y 3, angiotensina II, tromboxano A ₂ , radicales superóxido (O ₂), factor constrictor derivado del endotelio.
Vasodilatadores	Óxido nítrico, factor hiperpolarizante derivado del endotelio.
Agentes inductores De proliferación celular	Endotelina 1 y angiotensina II.
Factores de crecimiento	Factor de crecimiento vascular endotelial, factor de crecimiento básico de fibroblastos, factor de crecimiento derivado de plaquetas, factor de crecimiento transformante β.
Otras proteínas	Péptidos natriuréticos, adrenomedulina, interleucinas, difosfatasa de endoadenosina, factor de Von Willebrand, fibrinógeno, trombomodulina, factor tisular, selectinas, moléculas de adhesión vascular, moléculas de adhesión intracelular, integrinas, factores nucleares κ y β , factor activador de plaquetas, α-uroquinasa, activador tisular de plasminógeno, proteína S.

Las sustancias autócrinas y paracrinas mencionadas previamente participan en forma muy importante en la modulación por las células endoteliales de la respuesta de contracción-relajación a través de las acciones vasodilatadoras, antiagregantes y antiproliferativas de factores como la prostaglandina y el óxido nítrico, así como las acciones vasoconstrictoras, proagregantes y proliferativas de factores como el tromboxano A₂, la endotelina-1, los radicales libres, los factores de crecimiento y las moléculas de adhesión³⁴.

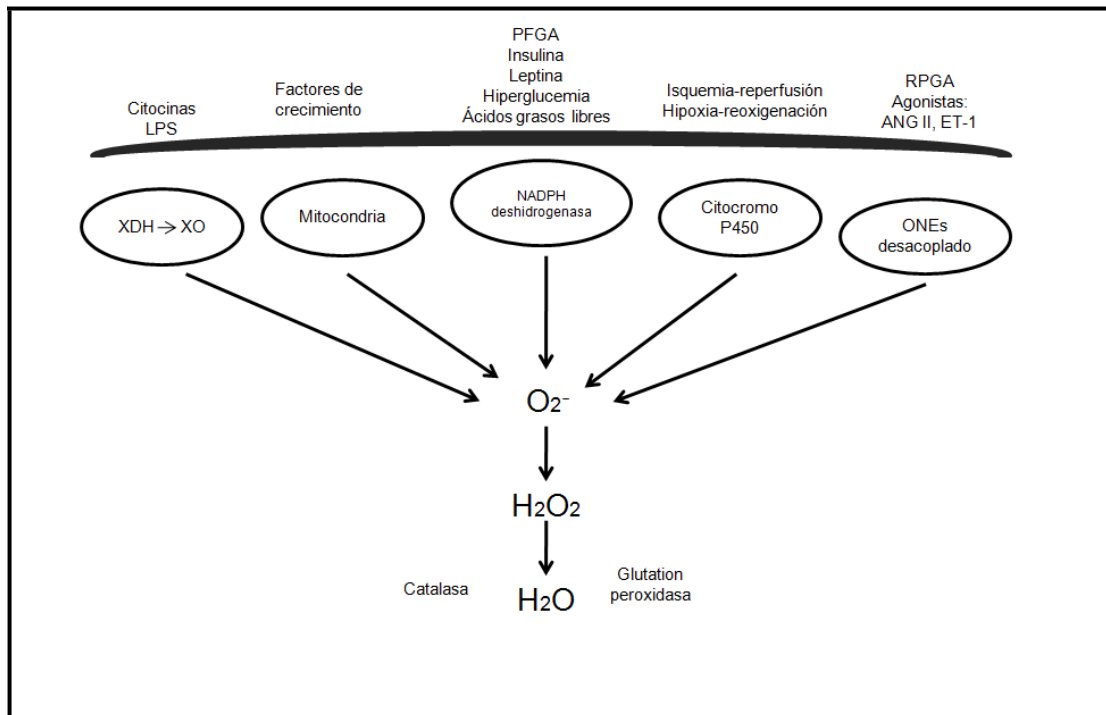


Figura 4. Diagrama esquemático que muestra el origen de la generación de O_2^- en las células endoteliales. Los estímulos potenciales para la generación de O_2^- se muestran a la cabeza. Xantina oxidasa=XO; óxido nítrico sintasa endotelial=ONEs; productos finales de la glicocilación avanzada=PFGA; endotelina-1=ET-1; receptor acoplado a proteína G=RAPG; lipopolisacárido=LPS; xantina deshidrogenasa =XDH.

Debido a los mecanismos mencionados, el concepto de endotelio considerado clásicamente como una simple barrera física que separaba la sangre de la pared vascular, ha cambiado sustancialmente en los últimos años, y actualmente es considerado como un auténtico “órgano” de regulación vascular con acciones

exócrinas, parácrinas y autócrinas, que está implicado en diversos procesos vasoactivos, metabólicos e inmunológicos.

De todos los factores derivados del endotelio mencionados previamente destaca el óxido nítrico, por su participación en prácticamente todas las funciones relacionadas con la homeostasis vascular y el papel fundamental que desempeña en el mantenimiento de ésta. El óxido nítrico actúa de forma parácrina produciendo la relajación del músculo liso de la capa media vascular, inhibiendo el crecimiento y la proliferación de las células del músculo liso, endoteliales y fibroblastos, la inhibición de la agregación plaquetaria, y la inhibición de la adhesión de los leucocitos al endotelio.

En condiciones fisiológicas existe un equilibrio entre las acciones antagónicas de los distintos factores mencionados del que va a depender en gran medida el mantenimiento de la homeostasis vascular³⁵. Sin embargo, en determinadas situaciones en las que las condiciones ambientales que rodean a las células endoteliales se modifican, este equilibrio puede alterarse conduciendo al predominio de las acciones de los factores vasoconstrictores, proliferativos y proagregantes en detrimento de las acciones de los factores vasodilatadores, antiproliferativos y antiagregantes. En estas condiciones el endotelio ya no tiene una función homeostática, sino que ejerce acciones deletéreas para la pared vascular. Esta situación se conoce como disfunción endotelial y se manifiesta como una respuesta vasodilatadora reducida dependiente de endotelio y/o una mayor respuesta constrictora dependiente o independiente de endotelio, una pérdida de la función de barrera endotelial selectiva, una mayor tendencia a la agregación plaquetaria y a la trombosis, una mayor tendencia a la adhesión de

leucocitos, proliferación así como migración de las células musculares lisas y de los fibroblastos³⁶. La disfunción endotelial está mediada por cambios en el patrón de síntesis, liberación, difusión o degradación de los diversos factores derivados del endotelio. Los mecanismos responsables de dichas alteraciones pueden ser originados tanto por cambios en los receptores para los agentes vasoactivos, como en las señales intracelulares de transducción o incluso por modificaciones en la respuesta de las células blanco de dichos factores. Por último, habría que destacar que la disfunción endotelial no es homogénea en sus características y su distribución, y que va a variar en función del proceso patológico asociado, así como con el lecho vascular que se considere.

DISFUNCIÓN ENDOTELIAL EN LAS ENFERMEDADES CARDIOVASCULARES: EL PAPEL DEL ESTRÉS OXIDATIVO.

Se ha reportado que el estrés oxidativo altera las funciones del endotelio, incluyendo la modulación del tono vascular. La inactivación del óxido nítrico por superóxido y otras especies reactivas de oxígeno pueden presentarse en ciertas condiciones como la hipertensión arterial, la diabetes, el tabaquismo y la insuficiencia renal aguda. La inactivación del óxido nítrico asociado con estos factores de riesgo tradicionales explicaría en parte la predisposición a aterosclerosis. Se han descrito muchos sistemas enzimáticos capaces de producir especies reactivas de oxígeno como la xantina oxidasa, la NADH/NADPH oxidasa, por lo que se ha propuesto realizar tratamientos específicos para prevenir

la actividad de estas enzimas con la finalidad de evitar el desarrollo de la disfunción endotelial³⁷.

Se ha observado que en los pacientes a los que se les administran medio de contraste se produce oxidación de las lipoproteínas de baja densidad, incrementando la adhesión y migración de los monocitos dentro del espacio subendotelial así como la formación de células espumosas³⁸, estas observaciones sugieren que se produce disfunción endotelial por la producción de radicales libres y estrés oxidativo.

ESTRATEGIAS DE PREVENCIÓN PARA LA NEFROPATÍA POR MEDIO DE CONTRASTE.

Conociendo el papel que desempeña la isquemia medular y la vasoconstricción, se han evaluado diversas estrategias para prevenir la nefropatía por medio de contraste.

Modificación de los factores de riesgo: En la medida de lo posible, la administración del medio de contraste deberá retardarse en pacientes en estados de choque o con insuficiencia cardiaca congestiva hasta que se halla corregido su estado hemodinámico; inclusive, su administración puede ser retrasada 24 horas después de infarto miocárdico. La exposición repetida de medio de contraste deberá ser retrasada por 48 horas en aquellos pacientes sin factores de riesgo para desarrollar nefropatía, y por 72 horas en aquellos pacientes con diabetes mellitus y/o insuficiencia renal pre-existente. En el caso que se desarrolle

nefropatía por medio de contraste, la exposición repetida deberá ser retrasada hasta que el nivel de creatinina sérica regrese a sus valores basales³⁹. Los antiinflamatorios no esteroideos, diuréticos (si es posible) y los inhibidores de la enzima convertidora de angiotensina, deberán discontinuarse 1 a 2 días previos a la administración del medio de contraste⁴⁰. En pacientes con factores de riesgo se debe tratar de administrar medio de contraste no iónico hipo o iso-osmolar⁴¹.

Hidratación y diuréticos: Se ha reportado que la depleción de volumen exagera la toxicidad de estos agentes y que la hidratación previene el deterioro de la función renal^{42,43}, por lo que se ha incluido como una rutina en todos los protocolos un régimen de hidratación intravenosa u oral previo y posterior a la exposición al medio de contraste⁴⁴.

El objetivo es mantener un balance positivo de líquidos con flujo urinario alto. Para ello se utiliza solución fisiológica 0.9% a 100 - 150 ml/h ó 1 - 1.5 ml/kg/h, para asegurar una diuresis de 75 - 125 ml/h.

Los diuréticos podrían prevenir la isquemia medular al disminuir la reabsorción de sodio. Solomon y colaboradores⁴⁵ compararon prospectivamente la eficacia profiláctica de tres estrategias: 1) hidratación con solución salina fisiológica 1 ml/kg/h iniciado 12 horas antes, 2) furosemida 80 mg IV 1 hora antes y 3) manitol 60 g infundido en la hora previa al procedimiento. Los tres grupos continuaron con hidratación 12 horas después del procedimiento. El incremento de la creatinina fue mayor a las 24 horas en los grupos con manitol y furosemida que en el que recibió solución salina fisiológica; a las 48 horas, el grupo con furosemida tuvo una mayor incidencia de nefropatía (40%) que los grupos asignados a manitol (28%) y solución salina fisiológica (11%).

En el estudio PRINCE⁴⁶ (estudio prospectivo en 98 pacientes con creatinina ≥ 1.8 mg/dl) asignados a hidratación con solución salina fisiológica 150 ml/h o furosemida dosis única de 1 mg/kg, más dopamina (3 gammas); este estudio se diseñó para valorar la hipótesis de que una diuresis forzada reduciría el riesgo de desarrollar nefropatía por medio de contraste.

La diuresis fue significativamente mayor en los pacientes que recibieron diuréticos más dopamina; sin embargo, no hubo diferencias en la elevación promedio de creatinina entre los tres grupos. Al dividirlos según el flujo urinario logrado en las primeras 24 horas, se evidenció que un flujo mayor de 150 ml/h se asoció con una reducción del 53% del riesgo de nefropatía por medio de contraste; esto podría explicarse por: disminución de la exposición al medio de contraste, mantenimiento de un alto flujo renal que limitaría el daño por hipoxia del medio de contraste y aceleración del flujo por los túbulos con reducción de la precipitación del contraste.

Vasodilatadores: El fenoldopam, un agonista selectivo D1 de dopamina con propiedades vasodilatadoras sistémicas y renales (disminución de la resistencia vascular renal e incremento del flujo sanguíneo renal, filtración glomerular y natriuresis) demostró beneficios⁴⁷ al reducir la isquemia medular renal y mejorar la filtración glomerular; sin embargo, clínicamente, la evidencia aún no es concluyente.

Dosis bajas de dopamina han sido empleadas para mantener la perfusión renal en pacientes con insuficiencia renal aguda secundaria a la inestabilidad hemodinámica. Sin embargo, estudios que evaluaron dosis bajas de dopamina (2 - 5 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{minuto}$) para prevenir el desarrollo de nefropatía, encontraron mayor deterioro de la función renal, inclusive con requerimientos de hemodiálisis

mayores⁴⁸; también se han postulado posibles efectos adversos relacionados a la activación simultáneamente de los receptores D2 que en contraste con los receptores D1, reducen el flujo sanguíneo renal y por consiguiente la filtración glomerular.

La adenosina intrarrenal desempeña un papel vasoconstrictor. Se ha reportado que los antagonistas de adenosina (aminofilina) mostraron resultados inconsistentes, con una mayor incidencia de nefropatía por medio de contraste (25%)⁴⁹.

Por otra parte, en estudios experimentales se ha demostrado que el péptido auricular natriurético incrementa el flujo sanguíneo renal. Un ensayo multicéntrico, doble ciego, aleatorizado, controlado con placebo falló en demostrar beneficios con distintas dosis de anaritide en pacientes con nefropatía por medio de contraste asociada a un deterioro previo de la función renal⁵⁰, además, trabajos experimentales con antagonistas específicos del receptor A y B de endotelina (mediador de vasoconstricción) se asociaron con una mayor incidencia de nefropatía comparada contra placebo⁵¹.

Medio de contraste de baja osmolaridad: En un trabajo multicéntrico, prospectivo, doble ciego se asignó a 1,196 pacientes a recibir contraste iónico o no iónico⁵² y se observó el 7% de desarrollo de nefropatía en los pacientes expuestos a agentes iónicos contra el 3% de los expuestos a los medios no iónicos. Al dividir a los pacientes en grupos según el antecedente de daño renal previo (creatinina $\geq 1,5$ mg/dl) y/o diabetes mellitus, se observó que los pacientes con daño renal previo y que recibieron contraste iónico presentaron 3.3 veces un riesgo mayor de desarrollar nefropatía por medio de contraste.

Hemodiálisis y hemofiltración: Vogt y cols⁵³ evaluaron la eficacia de la hemodiálisis inmediatamente posterior a la exposición al medio de contraste, misma que no mostró prevenir la nefropatía al compararla con hidratación con solución salina fisiológica en pacientes con daño renal previo; inclusive presentaron un mayor deterioro de la función renal, con requerimientos adicionales de sustitución renal con hemodiálisis. Posteriormente, Marenzi y cols⁵⁴ observaron que en población de alto riesgo (creatinina ≥ 2 mg/dl) la hemofiltración mostró un efecto protector, incluyendo una reducción significativa en la tasa de hospitalización y mortalidad a un año comparada con la rutina de hidratación. Sin embargo, el costo y la complejidad del procedimiento hacen difícil emplearla para generar más datos antes de ser avalada para su uso sistemático en la prevención de nefropatía por medio de contraste.

Antioxidantes: Estos fármacos atenúan el daño renal por remoción de radicales libres de oxígeno, los cuales se encargan de general un daño tóxico directo a nivel de las células tubulares¹².

La N-acetilcisteína ha sido el medicamento más estudiado dentro de este grupo, demostrando que protege a los pacientes con insuficiencia renal crónica moderada (Filtración glomerular < 60 ml/min) del deterioro en la función renal inducido por medio de contraste posterior a angiografías coronarias⁵⁵. Otro estudio ha demostrado la eficacia al utilizar este fármaco con actividad antioxidante en combinación con hidratación con bicarbonato de sodio en los casos de síndrome coronarios agudos en los que es necesario efectuar cateterismos de urgencia⁵⁶. Un meta-análisis reunió 7 ensayos clínicos controlados aleatorizados con 805 pacientes⁵⁷. Los autores concluyen que la N-acetilcisteína en combinación con la

hidratación reduce en forma significativa el riesgo de nefropatía por medio de contraste en pacientes con insuficiencia renal crónica; sin embargo, estos mismos autores encontraron una heterogenicidad importante entre los estudios incluidos y un probable sesgo de publicación, lo cual se traduce como una probable sobreestimación del efecto del fármaco por no incluir ensayos clínicos pequeños con resultados negativos. Estos resultados son muy prometedores, no sólo por su efecto en la reducción del factor de riesgo, sino también por la facilidad de administración y el bajo costo de la droga.

En otro estudio, el ácido ascórbico se asoció con una reducción del 62% para el desarrollo de nefropatía por medio de contraste en pacientes con insuficiencia renal que fueron sometidos a angiografías coronarias con o sin intervención⁵⁸. Sin embargo, son necesarios estudios prospectivos para poder validar estos resultados preliminares.

EDARAVONE.

La producción de radicales libres posterior a la administración de medio de contraste contribuye a incrementar el daño renal por toxicidad directa sobre el epitelio tubular²⁸. En los últimos años se han publicado una gran cantidad de estudios sobre ciertos agentes que inciden directamente sobre el estrés oxidativo y la remoción de radicales libres, desde el empleo de sustancias endógenas y vitaminas, hasta el desarrollo de sustancias exógenas con mayor potencia para captar o remover radicales libres.

El edaravone (3-metil-1-fenil-2-pirazolin-5-ona, Figura 5), es un compuesto fenólico capaz de remover radicales libres solubles; se ha demostrado que se logran concentraciones estables después de 30 minutos de su aplicación intravenosa, logrando niveles adecuados tanto tisulares como intracelulares gracias a su característica de ser lipofílico⁵⁹. En condiciones fisiológicas, la mitad está presente en forma aniónica, favoreciendo la donación de electrones para la remoción de radicales libres⁶⁰.

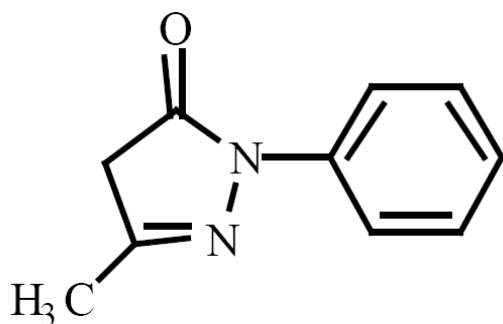


Figura 5. Estructura del edaravone.

Dentro de las acciones antioxidantes de edaravone se encuentran: un incremento en la producción de prostaciclina; la inhibición de la lipooxigenasa por atrapamiento de radicales libres; disminuye la peroxidación lipídica; y confiere protección de las células endoteliales contra especies reactivas de oxígeno⁶¹. En forma adicional se ha demostrado que el edaravone mejora la función endotelial en fumadores al incrementar la viabilidad del óxido nítrico⁶².

Estudios experimentales han mostrado efectos benéficos en enfermedades cerebro-vasculares con la administración de edaravone, particularmente atenuando la encefalopatía hipoxico-isquémica, disminuyendo el tamaño del infarto y el edema cerebral en isquemia focal, global y hemisférica en ratas⁶³. Además ha mostrado ser efectivo en la prevención de vasoespasmo cerebral posterior a hemorragia subaracnoidea en perros⁶⁴. Tsujimoto y cols⁶⁵ mostraron que con la infusión intraperitoneal de edaravone a dosis de 10 mg/kg cada 12 horas durante 7 días, se logró atenuar la sobrecarga e hipertrofia ventricular en aproximadamente un 30% en corazones de ratones sometidos a constricción de la aorta torácica. Akao y cols⁶⁶ demostraron la reducción del daño pulmonar por isquemia-reperfusión en perros, administrando edaravone a dosis de 3 mg/kg IV en el lapso de una hora: 30 minutos antes y 30 minutos después de la perfusión. Particularmente a nivel renal, existen pocos estudios que evalúen el efecto de edaravone. En toxicidad renal producida por cisplatino, la aplicación de una dosis de 1 o 5 mg/kg redujo el daño a nivel histológico y en marcadores séricos en un modelo de rata⁶⁷. Matsuyama y cols⁶⁸, en un estudio de daño renal por isquemia-reperfusión sugieren un efecto protector empleando edaravone a una dosis de 10 mg/kg antes de la isquemia y la misma dosis después de la perfusión al bloquear la activación de los neutrófilos.

El edaravone ya ha sido aprobado para su uso clínico en Japón, particularmente para disminuir el daño por isquemia cerebro-vascular y con cardiopatía isquémica aguda.

JUSTIFICACIÓN.

La nefropatía por medio de contraste es una de las principales causas de insuficiencia renal aguda adquirida en el medio hospitalario, la cual se asocia a un incremento en la morbi-mortalidad en los pacientes.

Se han propuesto diversos mecanismos dentro de la patogenia de dicha entidad, como son la hipoxia medular, incremento del estrés oxidativo y daño directo de las células tubulares, sin embargo, aun no se ha establecido el grado de disfunción endotelial durante el desarrollo de la nefropatía por medio de contraste.

Se han tratado de implementar varias estrategias para prevenir o disminuir el daño renal asociado a la exposición al medio de contraste (hidratación, vasodilatadores, antioxidantes y hemodiálisis) y hasta el momento, solo la expansión de volumen con soluciones isotónicas y el emplear medios de contraste hipo-osmolares han demostrado un efecto benéfico. Por lo anterior, es indispensable evaluar nuevas estrategias para intervenir sobre mecanismos fisiopatológicos conocidos en esta patología.

El edravone se encuentra disponible comercialmente, y se ha demostrado su efecto en la remoción de radicales libre, por lo que consideramos necesario probar su potencial efecto nefroprotector así como su capacidad para disminuir la disfunción endotelial en un modelo de nefropatía por medio de contraste vivo.

PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN.

¿El edaravone es capaz de proteger el desarrollo de nefropatía y de la disfunción endotelial inducida por la administración de medio de contraste en un modelo de insuficiencia renal aguda?

HIPÓTESIS.

NULA: El edaravone no es efectivo para prevenir la nefropatía y la disfunción endotelial inducida por medio de contraste en un modelo de insuficiencia renal aguda.

ALTERNA: El edaravone es efectivo para prevenir la nefropatía y la disfunción endotelial inducida por medio de contraste en un modelo de insuficiencia renal aguda.

OBJETIVOS PRIMARIOS.

1.- Evaluar si el edaravone previene la nefropatía inducida por medio de contraste en un modelo de insuficiencia renal aguda.

2.- Evaluar si el edaravone previene la disfunción endotelial de anillos de aorta de ratas con nefropatía por medio de contraste en un modelo de insuficiencia renal aguda.

MATERIALES Y MÉTODOS.

DISEÑO DEL ESTUDIO.

Estudio experimental, prospectivo, longitudinal.

DISEÑO EXPERIMENTAL.

Se utilizaron ratas macho Sprage-Dawley (300-350 gr de peso) y se estudiaron los siguientes grupos experimentales (n=9 cada grupo):

Grupo 1: En este grupo se administró de Buffer de fosfato endovenoso (IV) como vehículo y se utilizó como grupo control.

Grupo 2: A los animales de experimentación se les administró Medio de contraste (diatrizoato, IV, 6 mg/kg)⁶⁹. El medio de contraste utilizado es un monómero iónico hiperosmolar (osmolaridad 1,500 mosmol kg H₂O).

Debido a que el medio de contraste en ratas normales no modificó la creatinina sérica, se desarrolló un modelo de lesión renal aguda moderada con la administración de indometacina (10 mg/kg, IV, inhibidor de la ciclooxigenasa) + L-nitroarginina-metil-éster (L-NAME, 10 mg/kg, IV, inhibidor de la síntesis de óxido nítrico)⁷⁰.

Grupo 3: En este grupo se administraron: Indometacina + L-NAME + solución salina fisiológica (0.9%, 6 ml/kg IV). La indometacina y el L-NAME se disolvieron en buffer de fosfato (pH 7.4)

Se desarrollo un modelo de nefropatia por medio de contraste; para lo cual en el modelo de lesión renal aguda moderada mencionado previamente se administró diatrizoate.

Grupo 4: A los animales de experimentación se les administró Indometacina + L-NAME + diatrizoato diatrizoato, IV, 6 mg/kg.

Para evaluar el efecto protector del edaravone, se estudió el siguiente grupo experimental:

Grupo 5: En este grupo, el edaravone (5mg/kg disuelto en buffer de fosfatos,pH 7.4)⁷¹ se administró en dosis única una hora antes de inducir la nefropatía por medio de contraste.

MODELO DE LESION RENAL AGUDA MODERADA Y NEFROPATÍA POR MEDIO DE CONTRASTE.

Se utilizaron ratas Sprage-Dawley macho (300-350 gr de peso). Bajo anestesia general con isofluorano al 0.5%, se expuso la vena yugular derecha y se administró L-NAME; 15 minutos después se administró la indometacina por la misma vía, para producir una lesión renal aguda moderada. Finalmente 15

minutos después se administró el vehículo o medio de contraste en la vena yugular⁶⁹.

Siguiendo la misma metodología, el edaravone se administró por vía intravenosa en la vena yugular una hora antes de inducir insuficiencia renal aguda por medio de contraste en el grupo 5.

Se tomaron muestras de suero en condiciones basales y a las 24 horas posteriores a la inducción de la lesión renal aguda moderada y/o la nefropatía por medio de contraste para la determinación de creatinina (mg/dl). Los estudios se efectuaron a las 24hrs de la administración de los compuestos respectivos (grupos 1 a 3) o bien de la inducción de nefropatía por medio de contraste.

EVALUACIÓN DE DISFUNCIÓN ENDOTELIAL: ANILLOS DE AORTA.

El día del experimento, se indujo anestesia general en la rata, mediante la administración de pentobarbital sódico intraperitoneal (50 mg/kg) posteriormente se disecó la aorta torácica y se removió el tejido conectivo circundante, se cortaron 3 anillos de 3 mm de longitud. Se colocaron en una cámara para órgano aislado con 10 ml de solución de Krebs (composición mM): NaCl 118.1, NaHCO₃ 25, KCl 4.7, KH₂PO₄ 1.2, MgSO₄ 1.2, CaCl₂ 2.5, d-glucosa 11.1 (pH 7.4), con burbujeo continuo de una mezcla de O₂-CO₂ (95%,5%) a 37°C. Cada anillo aórtico se montó entre 2 ganchos de acero inoxidable, uno de los ganchos se colocó en el fondo de la cámara y el otro se colocó a un transductor de tensión, para producir

una tensión de 1 g. Después de un periodo de equilibrio de 2 h, la capacidad contráctil del endotelio vascular se evaluó con una curva dosis-respuesta a fenilefrina (10^{-8} a 10^{-6} M). La curva dosis-respuesta a acetilcolina (10^{-8} a 10^{-6} M) fue determinada en anillos aórticos precontraídos con 3×10^{-6} M de fenilefrina. La vasorelajación se expresó como el porcentaje de precontracción con fenilefrina. Las contracciones fueron medidas isométricamente con un transductor de tensión FT-03 acoplado a un polígrafo modelo 7D (Grass Medical Instruments, Quincy, MA, USA)⁷².

VARIABLES.

VARIABLE DEPENDIENTE.

- Función renal: concentración de creatinina (mg/dl). Variable cuantitativa, continua y de razón.
- Función endotelial: La respuesta a fenilefrina (vasoconstricción) se expresó como porcentaje de respuesta para cada concentración. La respuesta a acetilcolina (vasorelajación) se expresó como el porcentaje de la precontracción obtenida con fenilefrina para cada una de las concentraciones. Variable cuantitativa.

VARIABLES INDEPENDIENTES.

- Inducción de insuficiencia renal aguda por medio de contraste (variable cualitativa nominal).
- Administración de edaravone (variable cualitativa ordinal).

ANÁLISIS ESTADÍSTICO.

Los resultados se expresan como el promedio \pm error estándar. Para la comparación de más de 2 grupos se aplicó la ANOVA de una vía seguida de la prueba de Bonferroni. Se aceptó un nivel de significancia de $*p < 0.05$. El software empleado para el análisis estadístico fue PRISMA versión 3.0.

RESULTADOS.

Para evaluar si el diatrizoate altera la función renal en animales con función renal normal, se determinó la concentración de creatinina sérica (mg/dl) en condiciones basales y después de 24 horas de administrar solución salina (grupo control) ó el diatrizoate (medio de contraste). En la figura 6 se muestra que no se observaron diferencias estadísticamente significativas en la concentración de creatinina sérica entre el valor basal y el obtenido 24 horas después de administrar solución salina, valores similares fueron obtenidos antes y después de administrar el diatrizoate; es decir la administración del diatrizoate por si solo no produce alteraciones en la función renal en ratas cuando la función es normal (evaluada como valores de creatinina sérica).

Para evaluar si el diatrizoate produce disfunción endotelial, después de 24 horas de la administración de solución salina o del diatrizoate, se disecaron anillos de aorta y se realizó una curva concentración-respuesta a fenilefrina y a acetilcolina. En la figura 7 se observa que en los anillos de aorta de ratas a las cuales se les administro diatrizoate, pero tenían función renal normal (por valores de creatinina sérica) no se observaron diferencias estadísticamente significativas en la respuesta a un vasoconstrictor (fenilefrina) así como a un vasodilatador (acetilcolina) en comparación con el grupo control. Es decir el diatrizoate *per se* no produce disfunción endotelial cuando la función renal es normal.

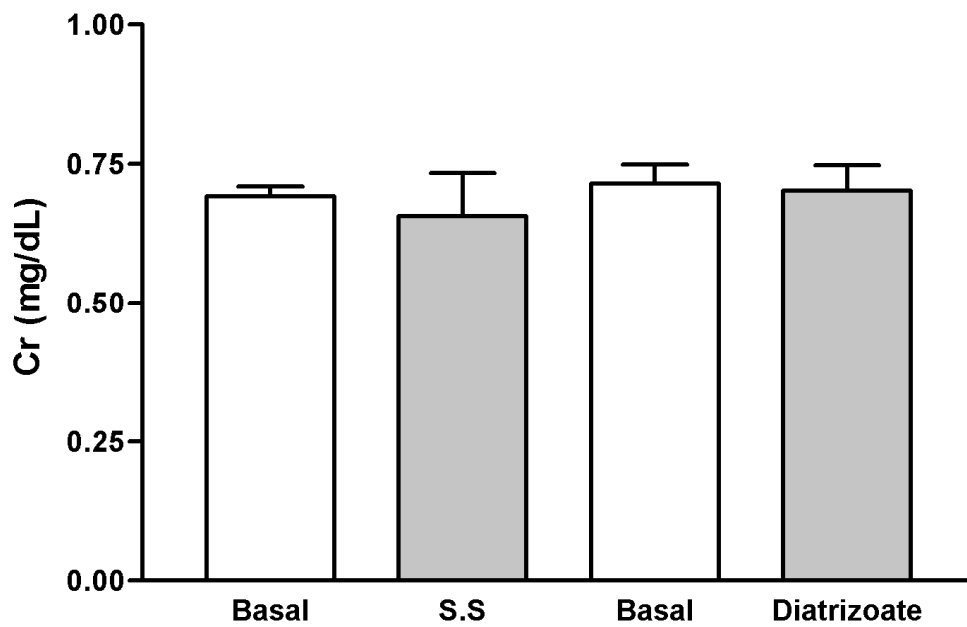


Figura 6. Concentración de creatinina sérica de ratas macho Sprage-Dawley en condiciones basales y después de la administración de solución salina (S.S) y Diatrizoate (medio de contraste). Los datos representan el promedio \pm error estándar de $n=9$. $P < 0.05$.

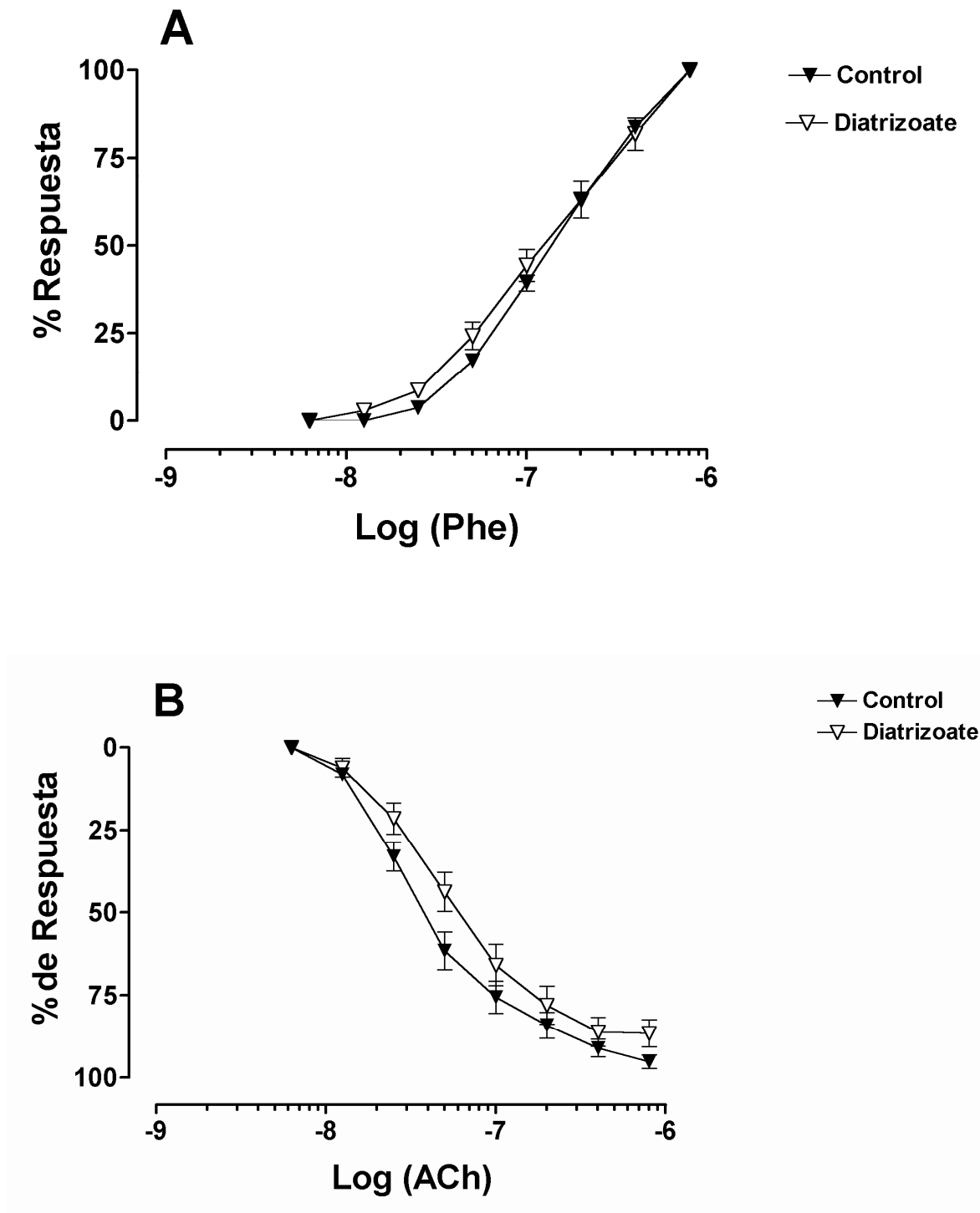


Figura 7. A) Curva concentración-respuesta a fenilefrina (Phe); B) Curva concentración-respuesta a acetilcolina (ACh). En aortas de ratas macho Sprague-Dawley después de 24 horas de la administración de solución salina y Diatrizoate (medio de contraste). Los datos representan el promedio \pm error estándar de $n=9$. $P < 0.05$.

En los resultados anteriores se demostró que el diatrizoate no induce nefropatía ni disfunción endotelial si no existe un factor de riesgo. Se ha reportado que la incidencia de la nefropatía por medio de contraste varía según la población estudiada y depende de la presencia de factores de riesgo como: insuficiencia renal o daño renal pre-existente, diabetes mellitus, insuficiencia cardíaca o deshidratación; por esta razón se evaluó la nefropatía por medio de contraste en un modelo de lesión renal aguda moderada.

Se determinó la concentración de creatinina sérica (mg/dl) en condiciones basales y después de 24 horas de administrar solución salina ó Diatrizoate en el modelo de lesión renal aguda moderada; En la Figura 8 se observó que el valor de creatinina basal aumenta un 27% en los animales con lesión renal aguda moderada; mientras que en los animales a los que se les indujo nefropatía por medio de contraste se duplicó el nivel de creatinina en relación a los valores basales; es decir la lesión renal aguda moderada previa a la administración del diatrizoate se asocia al desarrollo de nefropatía por medio de contraste, con un deterioro aun más significativo de la función renal.

En la figura 9 se observa que en los anillos de aorta de ratas con lesión renal aguda moderada y administración de diatrizoate, la respuesta a fenilefrina, no se modifica en comparación con el grupo con lesión renal aguda al cual se le administro solución salina, es decir la respuesta aun vasoconstrictor no se modifica, mientras que en la curva concentración-respuesta a acetilcolina en los animales con lesión renal aguda mas la administración de diatrizoate, disminuye en un 16% la respuesta vasodilatadora máxima en comparación con el grupo con lesión renal aguda al cual se le administro solución salina, es decir se produce

disfunción endotelial. Es importante mencionar, que en el grupo con lesión renal aguda que recibió solución salina, la vasodilatación por acetilcolina disminuyó significativamente (70%) comparado con el control, el cual alcanzó el 100 % de relajación.

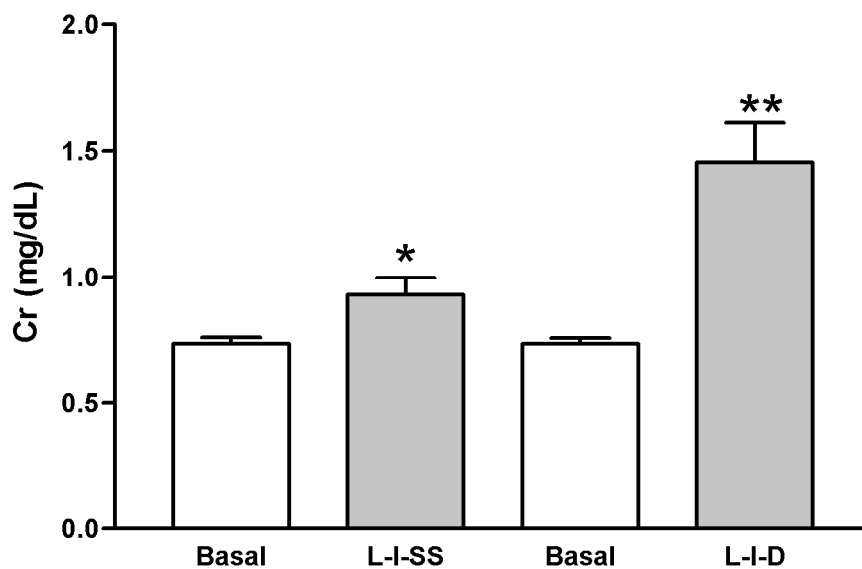


Figura 8. Concentración de creatinina sérica en condiciones basales y después de 24 horas de inducir lesión renal aguda moderada y nefropatía con la administración de L-NAME (L) + Indometacina (I)+ solución salina (SS, grupo control) ó Diatrizoate (D). Los datos representan el promedio \pm error estándar n=9,. * $P < 0.01$ (L-I-SS vs basal); ** $P < 0.01$ (L-I-D vs L-I-SS).

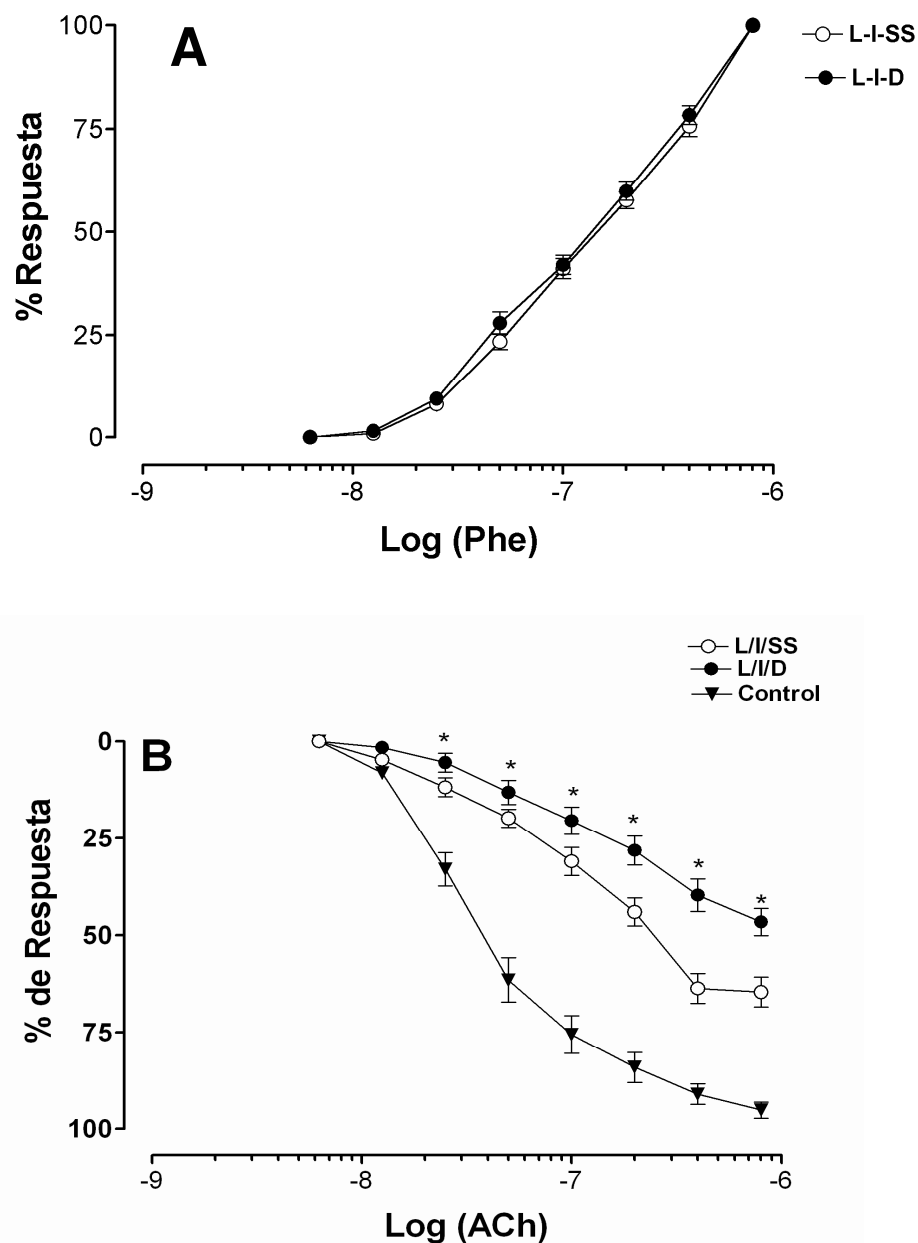


Figura 9. A) Curva concentración-respuesta a fenilefrina (Phe); B) Curva concentración-respuesta a acetilcolina (ACh). En aortas de ratas macho Sprague-Dawley después de 24 horas de inducir lesión renal aguda y nefropatía por medio de contraste con la administración de L-NAME (L) + Indometacina (I)+ solución salina (SS, grupo control) ó Diatrizoate (D). Los datos representan el promedio \pm error estandar de $n=9$,. * $P<0.01$ (L-I-D vs L-I-SS).

Para evaluar el efecto nefroprotector del edaravone (E), se administró este antioxidante previo a la inducción de nefropatía por medio de contraste; para lo cual se determinó la concentración de creatinina sérica (mg/dl) en condiciones basales y después de 24 horas de la administración de edaravone y de la inducción de nefropatía por medio de contraste. En la figura 10 se observa que la administración de edaravone disminuye en un 38% el valor de creatinina en comparación con el grupo sin tratamiento; es decir, la administración de edaravone se asocia a un menor deterioro de la función renal asociado a nefropatía por medio de contraste.

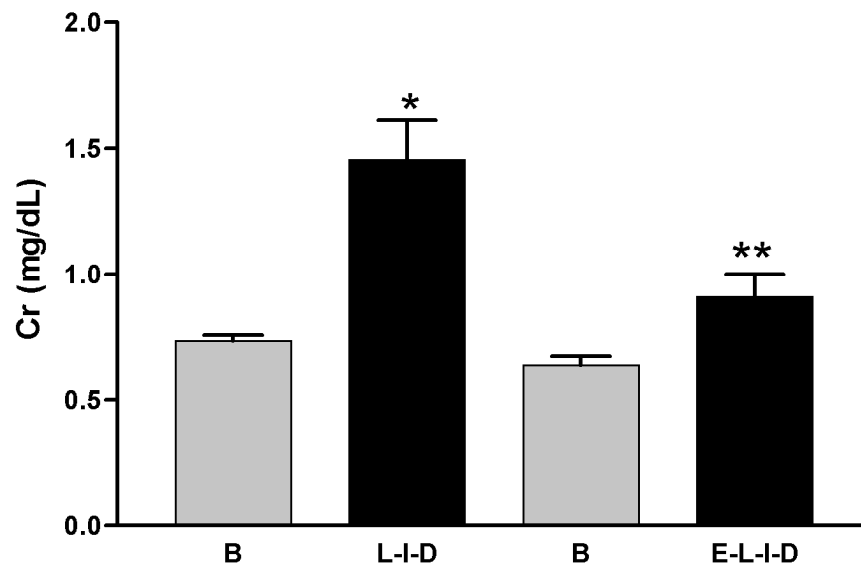


Figura 10. Concentración de creatinina sérica antes y después de 24 horas de administrar edaravone (E-L-I-D) para prevenir la nefropatía por medio de contraste (L-I-D). Los datos representan el promedio \pm error estándar de $n=9$. * $P<0.01$ (E-L-I-D vs L-I-D); ** $P<0.01$ (E-L-I-D vs L-I-D).

En la figura 11 se observa que en los anillos de aorta de ratas tratadas con edaravone previó a la inducción de nefropatía por medio de contraste, no hay cambios en la respuesta a fenilefrina mientras que se mejora en un 21% la respuesta vasodilatadora máxima a acetilcolina en comparación con el grupo sin tratamiento, es decir, el edaravone mejora la disfunción endotelial.

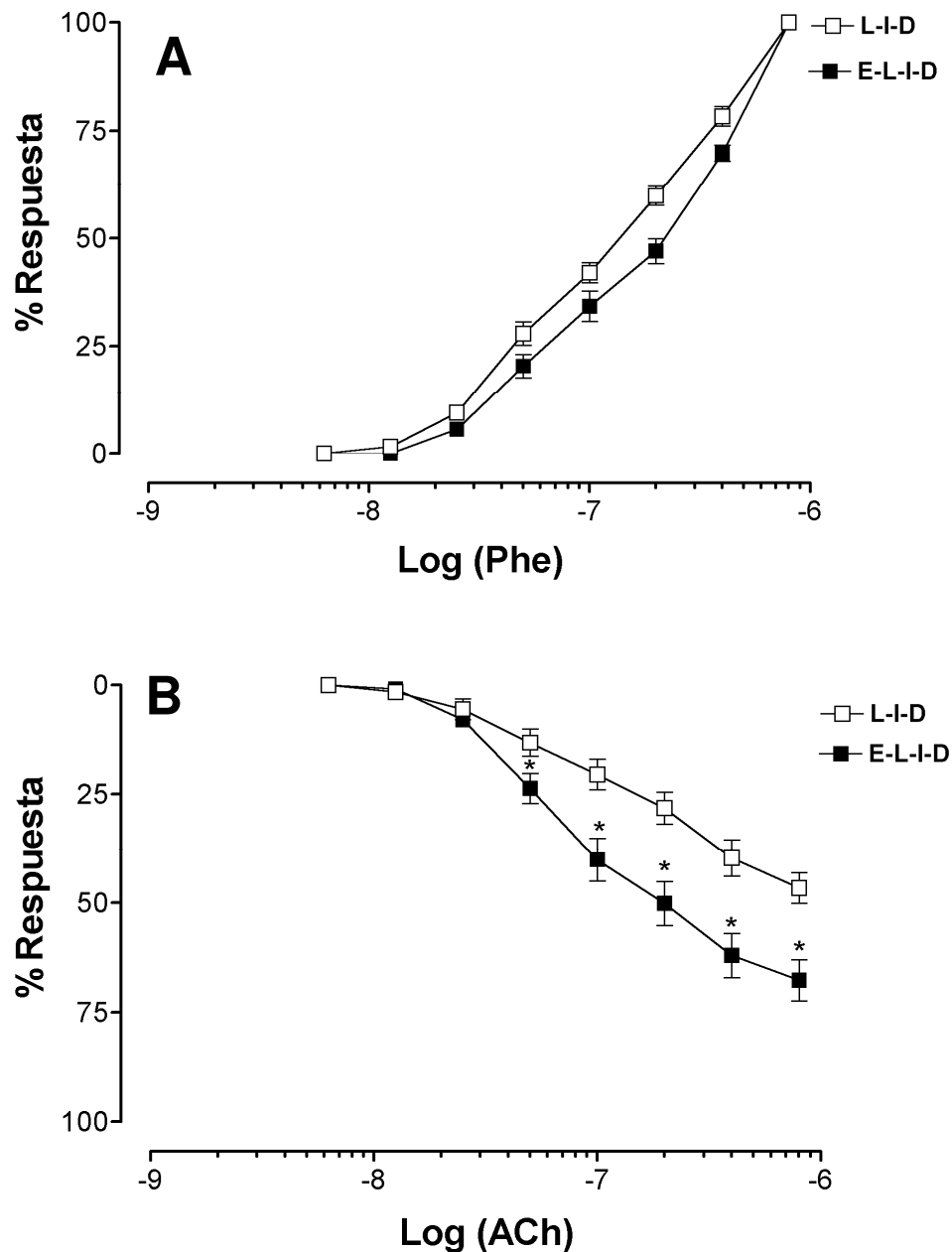


Figura 11. A) Curva concentración-respuesta a fenilefrina (Phe); B) Curva concentración-respuesta a acetilcolina (ACh). En aortas de ratas macho Sprague-Dawley después de 24 horas de inducir nefropatía por medio de contraste (L-I-D) y del tratamiento con edaravone (E-L-I-D). Los datos representan el promedio \pm error estandar de $n=9$, * $P<0.01$ (E-L-I-D vs L-I-D).

DISCUSIÓN.

La nefropatía por medio de contraste se define como la presencia de una elevación relativa de la creatinina sérica entre el 25 - 50% en relación con los valores basales previos a la inducción de nefropatía por medio de contraste⁶. Por otro lado, se ha descrito que a nivel vascular un aumento en la respuesta a vasoconstrictores y/ó una disminución en la respuesta a vasodilatadores produce disfunción endotelial³².

Para el estudio de los mecanismos implicados en la nefropatía por medio de contraste se han utilizado varios modelos en animales de experimentación⁷³; recientemente se ha sugerido que sustancias biológicas endógenas como endotelina y adenosina son mediadores muy importantes en el desarrollo de esta patología⁷⁴. Por otro lado, la isquemia renal parece ser un prerrequisito importante para el desarrollo de la nefropatía por medio de contraste, la cual es difícil de inducir en animales con función renal normal. Esto fue corroborado en el presente estudio en el cual observamos que la administración de diatrizoate a ratas Sprague-Dawley, macho no altera la función renal ni la función endotelial, estos resultados demuestran que la exposición al medio de contraste *per se* no es suficiente para producir nefropatía ni disfunción endotelial.

Por otro lado, Heyman y cols⁷⁵. observaron que los medios de contrastes (iotalamato e iohexol), inducen la liberación de endotelina-1 tanto en estudios *in vivo* como *in vitro*, por lo que sugieren que la endotelina participa en la vasoconstricción observada en la nefropatía por medio de contraste. Sin embargo, Wang y cols⁵¹. observaron que en pacientes con insuficiencia renal crónica

tratados con un antagonista de los receptores a endotelina se exacerbaba la nefropatía por medio de contraste en comparación con el placebo. Por esta razón, para desarrollar los modelos de nefropatía por medio de contraste ha sido necesario pre-condicionar a los animales de experimentación al desarrollo de daño renal: en conejos con depleción de sal y la administración de indometacina⁷⁵, en ratas con uninefrectomía, pre-tratamiento con indometacina y depleción del sal varios días antes de la exposición al medio de contraste⁷⁶, ratas con hipertensión inducida por L-NAME⁷⁷, perros con insuficiencia cardiaca congestiva producida por la estimulación ventricular rápida⁷⁸ y ratas con isquemia renal inducida por la inhibición aguda de la síntesis de óxido nítrico y prostaciclina⁷⁹. En este último modelo se ha estudiado el efecto de la administración de iodotalamato, lo cual induce un marcado daño renal ya que la combinación de L-NAME, indometacina y el iodotalamato reducen el flujo sanguíneo medular en un 10% y condiciona a una necrosis selectiva y extensa a nivel de la rama ascendente del asa de Henle.

Wang y cols⁵¹, compararon el grado de toxicidad renal entre medios de contraste de alta y baja osmolaridad en un modelo de insuficiencia renal aguda inducido por la administración de L-NAME e indometacina, en este modelo, observaron que el diatrizoate (alta osmolaridad) se asoció a un mayor deterioro de la función renal en comparación con iopramide (baja osmolaridad); además demostraron que la administración de 6 y 8 ml/kg de diatrizoate duplica el valor de la concentración de creatinina a las 24 horas, con un descenso de esta a sus niveles basales a los 7 días después de la exposición a el diatrizoate.

El modelo desarrollado por Wang y cols⁵¹, es un modelo práctico, pues la nefropatía por medio de contraste se puede inducir el mismo día que la lesión

renal. Por esta razón se decidió desarrollar este modelo de nefropatía por medio de contraste (inducción de lesión renal aguda moderada, administración de 6 ml/Kg de diatrizoate y su evaluación a las 24 horas). Wang y cols⁵¹. observaron que no hay un incremento significativo en la concentración de creatinina sérica posterior a la inducción de la lesión renal aguda renal aguda, mientras que ésta se duplica después de inducir nefropatía por medio de contraste. En contraste, Agmon y cols⁷⁹. reportan que en este mismo modelo de lesión renal aguda se duplica la concentración de creatinina a las 24 horas y se incrementa aun más posterior a la administración de medio de contraste hiperosmolar (iotalamato). Estas diferencias pueden deberse a que los autores utilizaron 2 tipos de medio de contraste hiperosmolares, en donde el iotalamato fue capaz de producir mayor daño.

En el presente estudio observamos un incremento en el valor de creatinina sérica del 27 % posterior a la inducción de lesión renal aguda y de manera similar a los estudios previamente mencionados, se duplica el valor de creatinina después de la administración de diatrizoate; es decir estos resultados demuestran que el diatrizoate induce nefropatía por medio de contraste en un modelo con lesión renal aguda previa.

Además de la lesión renal pre-existente y el empleo de medios de contraste hiperosmolares, se ha reportado que enfermedades como la diabetes mellitus⁸⁰, la hipertensión arterial⁸¹, la aterosclerosis⁸² y la insuficiencia cardíaca⁸³, también se asocian al desarrollo de nefropatía por medio de contraste. La disfunción endotelial es la característica común en estas enfermedades, lo cual ha sugerido

que la disfunción endotelial participa de manera importante en la génesis de la nefropatía por medio de contraste.

La disfunción endotelial se caracteriza por un incremento de la reactividad a vasoconstrictores (vasopresina, angiotensina II, dopamina-1, endotelina, adenosina y fenilefrina), así como a la disminución en la reactividad de sustancias vasodilatadoras (óxido nítrico y prostaglandinas)³⁴.

Por esta razón decidimos evaluar el grado de disfunción endotelial en anillos de aorta de ratas con lesión renal aguda así como en el grupo con nefropatía por medio de contraste. En ambos grupos observamos que no se modifica la respuesta vasoconstrictora a fenilefrina y disminuye la respuesta vasodilatadora a acetilcolina; es decir se produce disfunción endotelial en ambos grupos, sin embargo es importante señalar que la disfunción endotelial es más acentuada en la nefropatía por medio de contraste (70% lesión renal vs 40 % nefropatía por medio de contraste, $p < 0.05$).

Se ha reportado que el estrés oxidativo altera las funciones del endotelio, incluyendo la modulación del tono vascular. La inactivación del óxido nítrico por el radical superóxido y otras especies reactivas de oxígeno pueden presentarse en ciertas condiciones como la hipertensión arterial, la diabetes, el tabaquismo y la insuficiencia renal aguda³⁷. Además se ha observado que en los pacientes a los que se les administran medio de contraste se produce oxidación de las lipoproteínas de baja densidad, incremento de la adhesión y migración de los monocitos dentro del espacio subendotelial así como la formación de células espumosas³⁸, estas observaciones sugieren que se produce disfunción endotelial por la producción de radicales libres y estrés oxidativo.

Se ha propuesto el uso de antioxidantes para prevenir la nefropatía por medio de contraste y la disfunción endotelial, con resultados alentadores, dentro de las que destacan la administración de antioxidantes como la N-acetilcisteína. Recientemente se ha reportado que edaravone es un antioxidante que actúa a través de los siguientes mecanismos: 1) incrementa la producción de prostaciclina, 2) inhibe lipooxigenasa por atrapamiento de radicales libres, 3) disminuye la peroxidación lipídica, y 4) confiere protección de las células endoteliales contra especies reactivas de oxígeno⁶¹.

Considerando los mecanismos previamente descritos, decidimos emplear el edaravone para prevenir el desarrollo de nefropatía por medio de contraste así como la disfunción endotelial asociada. En efecto, nuestros resultados demuestran que el edaravone disminuye el deterioro de la función renal así como el grado de disfunción endotelial.

CONCLUSIONES.

1. La administración de medio de contraste hiperosmolar *per se* no induce nefropatía por medio de contraste ni disfunción endotelial.
2. La administración de medio de contraste hiperosmolar en un modelo de lesión renal aguda se asoció a un deterioro significativo tanto de la función renal como endotelial.
3. La administración de edaravone previene el daño renal inducido por medio de contraste y mejora la respuesta vasodilatadora en anillos de aorta de ratas, esto posiblemente mediante la remoción de radicales libres, sin embargo no fue demostrado en este trabajo.
4. Por lo tanto, los estudios con edaravone abren un nuevo horizonte a la comunidad científica y crean la esperanza de llegar a dilucidar los mecanismos que producen lesión renal como consecuencia del uso de medios de contraste.
5. La relevancia del efecto del edaravone es muy importante, pues plantea la posibilidad de que el compuesto pueda prevenir la nefropatía por medio de contraste en pacientes con alto riesgo de desarrollar este problema.

BIBLIOGRAFÍA.

1. Yoshinori I, Takahisa Y, Toshiaki S, Ryoso O. Clinical and experimental evidence form prevention of acute renal failure induced by radiographic contrast media. *J Pharmacol Sci* 2005; 97:473-488.
2. Katayama H, Yamaguchi K, Kozuka T, Takashima T, Seez P, Matsuura K: Adverse reactions to ionic and nonionic contrast media. *Radiology* 1990; 175: 621-628.
3. Kanzaki T, Sakagami H. Late phase allergic reaction to a CT contrast médium (iotrolan). *J Dermatol* 1991; 18: 528-531.
4. Spencer CM, Goa KL. Iodixanol a review of its pharmacodynamic and pharmacokinetic properties and diagnostic use as an x-ray contrast medium. *Drugs* 1996; 52: 899-927.
5. Morcos SK, Thomsen HS. European Society of Urogenital Radiology guidelines of administering contrast media. *Abdom Imaging* 2003; 28: 187-190.
6. Solomon R. Contrast-medium-induced acute renal failure (Nephrology forum). *Kidney Int* 1998; 53(1):230-242.
7. Rihal CS, Textor SC, Grill DE, Berger PB, Ting HH, Best PJ, et al. Incidence and prognostic importance of acute renal failure after percutaneous coronary intervention. *Circulation* 2002; 105: 2259-64.

8. Davidson CJ, Hlatky M, Morris KG, et al. Cardiovascular and renal toxicity of a non-ionic radiographic contrast after cardiac catheterization: a prospective trial. *Ann Intern Med* 1989; 110:119-24.
9. Waybill MM, Waybill PN. Contrast Media-induced nephrotoxicity: Identification of patients at risk and algorithms for prevention. *J Vasc Interv Radiol* 2001; 12:3-9.
10. Gleesonand T, Bulugahapitiya S. Contrast-induced nephrotoxicity: Review. *AJR* 2004; 183:1673–1689.
11. Rudnick MR, Goldfarb S, Wexler L, et al. Nephrotoxicity of ionic and nonionic contrast media in 1196 patients: a randomized trial. *Kidney Int* 1995; 47:254-61.
12. Tublin ME, Murphy ME, Tessler FN. Current concepts in contrast media-induced nephropathy. *AJR* 1998; 171:933–939.
13. Manske CL, Sprafka JM, Strony JT, Wang Y. Contrast nephropathy in azotemic diabetic patients undergoing coronary angiography. *Am J Med* 1990; 89:615–620.
14. Taliercio CP, Vlietstra RE, Fisher LD, Burnett JC. Risk of renal dysfunction with cardiac angiography. *Ann Intern Med* 1986; 104:501-4.
15. Cigarroa RG, Lange RA, Williams RH, Hillis LD. Dosing of contrast material to prevent contrast nephropathy in patients with renal disease. *Am J Med* 1989; 86:649-52.
16. Lang E, Foreman J, Schlegel J, et al. The incidence of contrast medium-induced tubular necrosis following arteriography: *Radiology* 1981; 138:203–206.

17. McCarthy CS, Becker JA. Multiple myeloma and contrast media. *Radiology* 1992; 183:519-21.
18. Mehran R, Aymong ED, Nikolsky E, Lasic Z, Iakovou I, Fahy M, et al. A simple risk score for prediction of contrast-induced nephropathy after percutaneous coronary intervention: development and initial validation. *J Am Coll Cardiol* 2004; 44:1393-9.
19. Barrett BJ. Contrast nephrotoxicity. *J Am Soc Nephrol* 1994; 5:125-37. 1989; 320:179-81.
20. Sabeti S, Schillinger M, Mlekusch W, Ahmadi R, Minar E. Reduction in renal function after renal arteriography and after renal artery angioplasty. *Eur J Vasc Endovasc Surg* 2002; 24:156-60.
21. Levy EM, Viscoli CM, Horwitz RI. The effect of acute renal failure on mortality. A cohort analysis. *JAMA* 1996; 275:1489:94.
22. Caldicott WJH, Hollenberg NK, Abrams HL. Characteristics of response of renal vascular bed to contrast media. Evidence of vasoconstriction induced by renin-angiotensin system. *Invest Radiol* 1970; 5:539-47.
23. Katzberg RW, Morris TW, Bururgener FA, Kamm DE, Fischer HW. Renal renin and hemodynamic responses to selective renal artery catheterization and angiography. *Invest Radiol* 1977; 12:381-8.
24. Heyman SN, Reichman J, Brezis M. Pathophysiology of radiocontrast nephropathy: A role for medullary hypoxia. *Inv Radiology* 1999; 34:685-91.
25. Weisberg LS, Kurnik PB, Kurnik BR. Radiocontrast- induced nephropathy in humans: role of renal vasoconstriction. *Kidney Int* 1992; 41:1408–1415.

26. Prasad PV, Priatna A, Spokes K, Epstein FH. Changes in intra-renal oxygenation as evaluated by BOLD MRI in a rat kidney model for radiocontrast nephropathy. *J Magn Reson Imaging* 2000; 13:744–747.
27. Humes HD, Hunt DA, White MD. Direct toxic effect of radiocontrast agent diatrizoate on renal proximal cells. *Am J Physiol* 1987; 252:F246-F255.
28. Ueda J, Nygren A, Hansell P, Ulfendahl HR. Effect of intravenous contrast media on proximal and distal tubular hydrostatic pressure in the rat kidney. *Acta Radiologica* 1993; 34:83-7.
29. Baliga R, Ueda N, Walker PD, Shah SV. Oxidant mechanisms in toxic acute renal failure. *Am J Kidney Dis* 1997; 29:465–477.
30. Raij L: Mechanisms of vascular injury: the emerging role of endothelium. *J Am Soc Nephrol* 1991; 2: S2-S8.
31. Ramesh KV, Shenoy KA. Endothelial Dysfunction: many ways to correct-trends that promise. *Indian Journal of Pharmacology* 2003; 35:73-82.
32. Vanhoutte PM. Ageing and endothelial dysfunction. *Eur Heart J Supplements* 2002; 4 (Suppl A): A8–A17).
33. Firchgott RF, Vanhoutte PM. Endothelium-derived relaxing factors and contracting factors. *FASEB J* 1989;3: 2007-2018.
34. Lahera V, Navaro-Cid J, Cacetilcolinaofoeiro V, García-Estaño J, Ruilope LM: Nitric oxide, the kidney and hypertension. *Am J Hypertens* 1997;10: 129-140.
35. Haller H: Endothelial function: general considerations. *Drugs* 1997; 10: 129.

- 36.Vane JR: Impacto de los factores de riesgo sobre el endotelio. Cardiovascular Risk Factors (Ed. española) 1994; 3: 208-221.
- 37.Cai H, Harrison DG. Endothelial dysfunction in cardiovascular diseases: The role of oxidant stress. Circ Res 2000; 87:840-44.
- 38.Brevetti G, Martone VD, de Cristofaro, T, et al. High levels of adhesion molecules are associated with impaired endothelium-dependent vasodilation in patients with peripheral arterial disease. Thromb Haemost 2001; 85:63.
- 39.Cox CD, Tsikouris JP. Preventing contrast nephropathy: what is the best strategy? A review of the literature. J Clin Pharmacol 2004; 44:327-37.
- 40.Goldenberg I, Matetzky S. Nephropathy induced by contrast media: pathogenesis, risk factors and preventive strategies. CMAJ 2005; 172(11):1461-1471.
- 41.McCullough PA, Bertrand ME, Brinker JA, Stacul F. A Meta-Analysis of the Renal Safety of Isosmolar Iodixanol Compared With Low-Osmolar Contrast Media. J Am Coll Cardiol 2006; 48:692-9.
- 42.Eisenberg RL, Bank WO, Hedgock MW. Renal failure after major angiography can be avoided with hydration. AJR Am J Roentgenol 1981; 136:859-61.
- 43.Teruel JL, Marcen R, Herrero JA, Felipe C, Ortuno J. An easy and effective procedure to prevent radiocontrast agent nephrotoxicity in high-risk patients. Nephron 1989; 51:282.
- 44.Brown RS, Ransil B, Clark BA. Prehydration protects against contrast nephropathy in high risk patients undergoing cardiac catheterization. Am Soc Nephrol 1990; 1:330.

45. Solomon R, Werner C, Mann D, D'Elia J, Silva P. Effects of saline, manitol and furosemide on acute decreases in renal function induced by radiocontrast agent. *N Engl J Med* 1994; 331:1416-20.
46. Stevens M, McCullough P, Tobin K. A prospective randomized trial of prevention measures in patients at high risk of contrast nephropathy. The PRINCE Study. *J Am Coll Cardiol* 1999; 33:403-11.
47. Mathur VS, Ellis D, Fellmann J, Luther RR. Therapeutics for hypertensive urgencies and emergencies – fenoldopam: a novel systemic and renal vasodilator. *Cardiovasc Intervent Radiol* 1998; 1:43-53.
48. Hans SS, Hans BA, Dhillon R, Dmuchowski C, Glover J. Effect of dopamine on renal function after arteriography in patients with preexisting renal insufficiency. *Am Surg* 1998; 34:1682-8.
49. Huber W, Ilgmann K, Page M. Effect of theophylline on contrast material-induced nephropathy in patients with chronic renal insufficiency: controlled, randomized, double-blinded study. *Radiology* 2002; 223:772-9.
50. Allgren RL, Marbury TC, Rahman SN, et al. for the Auriculin Anaritide Acute Renal Failure Study Group. Anaritide in acute tubular necrosis. *N Engl J Med* 1997; 336:828–834.
51. Wang A, Holcslaw T, Bashore TM, Freed MI, Miller D, Rudnick MR, et al. Exacerbation of radiocontrast nephrotoxicity by endothelin receptor antagonism. *Kidney Int* 2000; 57:1675-80.
52. Lautin EM, Freeman NJ, Schoenfeld AH, et al. Radiocontrast-associated renal dysfunction: Incidence and risk factors. *AJR Am J Roentgenol* 1991; 157:49-58.

53. Vogt B, Ferrari P, Schonholzer C, et al. Prophylactic hemodialysis after radiocontrast media in patients with renal insufficiency is potentially harmful. *Am J Med* 2001; 111:692–698.
54. Marenzi G, Marana I, Lauri G, et al. The prevention of radiocontrast-agent-induced nephropathy by hemofiltration. *N Engl J Med* 2003; 349: 1333–1340.
55. Baker CS, Wragg A, Kumar S, De Palma R, Baker L, Knight CJ. A Rapid Protocol for the Prevention of Contrast-Induced Renal Dysfunction: The RAPPID Study. *J Am Coll Cardiol* 2003; 41:2114-18.
56. Recio-Mayoral A, Chaparro M, Prado B, Cozar R, Cruz JM, et al. The Renoprotective Effect of Hydration With Sodium Bicarbonate Plus N-Acetylcysteine in Patients Undergoing Emergency Percutaneous Coronary Intervention: The RENO Study. *J Am Coll Cardiol* 2007; 49:1283-8.
57. Birck R, Krzossok S, Markowitz F, Schnülle P, Woude F, Braun C. Acetylcysteine for prevention of contrast nephropathy: meta-analysis. *Lancet* 2003; 362:598-603.
58. Spargias K, Alexopoulos E, Kyrzopoulos S, Iacovis P, Greenwood DC, Manginas A, et al. Ascorbic acid prevents contrast-mediated nephropathy in patients with renal dysfunction undergoing coronary angiography or intervention. *Circulation* 2004; 110:2837-42.
59. Takamatsu Y, Watanabe T. Studies on the concentrations of 3-methyl-1-phenyl-2-prazolin-5-one (MCI-186) in dog plasma and cerebral spinal fluid. *Jpn Pharmacol Ther* 1997; 25(suppl): S1785-91.

60. Yamamoto Y, Kuwahara T, Watanabe K. Antioxidant activity of 3-methyl-1-phenyl-2-pyrazolin-5-one. *Redox Rep* 1996; 2:333–338.
61. Higashi Y, Jitsuiki D, Chayama K, Yoshizumi M. Edaravone (3-methyl-1-phenyl-2-pyrazolin-5-one), A novel free radical scavenger, for treatment of cardiovascular diseases. *Rec Pat Card Drug Disc* 2006; 1:85-93.
62. Jitsuiki D, Higashi Y, Goto C, et al. Effect of Edaravone, a novel free radical scavenger, on endothelium-dependent vasodilation in smokers. *Am J Cardiol* 2004; 94: 1070-3.
63. Watanabe T, Yuki S, Egawa M, Nishi H. Protective effects of MCI-186 on cerebral ischemia: possible involvement of free radical scavenging and antioxidant actions. *J Pharmacol Exp Ther* 1994; 268: 1597-604.
64. Nakagomi T, Yamakawa K, Sasaki T, Saito I, Tanaka K. Effect of edaravone on cerebral vasospasm following experimental subarachnoid hemorrhage. *J Stroke and Cerebrovasc Disease* 2003; 12: 17-21.
65. Tsujimoto I, Hikoso S, Yamaguchi O, et al. The antioxidant edaravone attenuates pressure overload-induced left ventricular hypertrophy. *Hypertension* 2005; 45 921-6.
66. Akao T, Takeyoshi I, Totsuka O. Effect of the radical scavenger MCI-186 on pulmonary ischemia-reperfusion injury in dogs. *J Heart Lung Transplant* 2006; 25:965-71.
67. Satoh M, Kashihara N, Fujimoto S. Edaravone, a novel free radical scavenger, protects against cisplatin-induced acute renal damage *in vitro* and *in vivo*. *JPET* 2003; 305:1183-90.

68. Matsuyama M, Hayama T, Funao K. Treatment with edaravone improves the survival rate in renal warm ischemia-reperfusion injury using rat model. *Transpl Proceedings* 2006; 38:2199-200.
69. Toprak O, Cirit M, Tanrisev M, Yazici C, Canoz O, Sipahioglu M. Preventive effect of nebivolol on contrast-induced nephropathy in rats. *Nephrol Dial Transplant* 2007; 0: 1–7.
70. Wang YX, Jia YF, Chen KM, Morcos SK. Radiographic contrast media induced nephropathy: experimental observations and the protective effect of calcium channel blockers. *Brit J Rad* 2001; 74:1103-08.
71. Doi K, Suzuki Y, Nakao A, Fujita T, Noiri E. Radical scavenger edaravone developed for clinical use ameliorates ischemia/reperfusion injury in rat kidney. *Kidney Int* 2004; 65:1714-23.
72. Sharabi FM, Daabees TT, El-Metwally MA, Senbel AM. Effect of sildenafil on the isolated rat aortic rings. *Fundamental & Clinical Pharmacology* 2005; 19: 449–456.
73. Idee JM, Bonnemain B. Reliability of the experimental models of iodinated contrast media induced acute renal failure. From methodological considerations to pathophysiology. *Invest Radiol* 1996; 31:230–41.
74. Oldroyd SD, Fang L, Haylor JL, Yates MS, El Nahas AM, Morcos SK. Effects of adenosine receptor antagonists on the responses to contrast media in the isolated rat kidney. *Clin Sci* 2000; 98:303–11.
75. Heyman SN, Rosen S, Brezis M. Radiocontrast nephropathy: a paradigm for synergism between toxic and hypoxic insults in the kidney. *Exp Nephrol* 1994; 2:153–7.

76. Oldroyd SD, Haylor JL, Morcos SK. Bosentan, an orally active endothelin antagonist: effect on renal response to contrast media. *Radiology* 1995; 196:661–5.
77. Erley CM, Burgert K, Langanket J, Osswald H, Risler T. A novel animal model of radiocontrastinduced nephropathy (RCN). *J Am Soc Nephrol* 1995; 5:426.
78. Margulies KB, Mckinley LJ, Caverio PG, Burnett JC. Induction and prevention of radiocontrastinduced nephropathy in dogs with heart failure. *Kidney Int* 1990; 38:1101–8.
79. Agmon Y, Peleg H, Greenfield Z, Rosen S, Brezis M. Nitric oxide and prostanoids protect the renal outer medulla from radiocontrast toxicity in the rat. *J Clin Invest* 1994; 94:1069–75.
80. Calver A, J Collier, Vallance P. Inhibition and stimulation of nitric oxide synthesis in the human forearm arterial bed of patients with insulindependent diabetes. *J. Clin. Invest.* 1992; 90:2548-2554.
81. Panza, J. A., A. A. Quyyumi, J. E. Brush, and S. E. Epstein. 1990. Abnormal endothelium-dependent relaxation in patients with essential hypertension. *N Engl J Med* 323:22-27.
82. Ludmer, P. L., A. P. Selwyn, T. L. Shook, R. R. Wayne, G. H. Mudge, R. W. Alexander, and P. Ganz. 1986. Paradoxical vasoconstriction induced by acetylcholine in atherosclerotic coronary arteries. *N. Engl. J. Med.* 315:1046- 1051.

83. Kubo, S. H., T. S. Rector, A. J. Bank, R. E. Williams, and S. M. Heifetz. 1991. Endothelium-dependent vasodilation is attenuated in patients with heart failure. *Circulation*. 84:1589-1596.