

01674



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

**MAESTRÍA EN CIENCIAS DE LA PRODUCCIÓN Y DE LA SALUD
ANIMAL**

**“EVALUACIÓN HISTOPATOLÓGICA DE LESIONES RENALES
PROVOCADAS POR UN GENERADOR DE ONDAS DE CHOQUE
TANDEM PARA LITOTRIPSIA EXTRACORPORAL”**

T E S I S

**PARA OBTENER EL GRADO DE MAESTRO EN
CIENCIAS**

PRESENTA:

HORACIO ZENDEJAS MARTÍNEZ

TUTOR:

DR. ACHIM MAX LOSKE MEHLING

COMITÉ TUTORAL:

MVZ ESP. JOAQUÍN AGUILAR BOBADILLA

DR. EDUARDO CASTAÑO TOSTADO

MÉXICO, D.F.

2005.

m343657



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.

Agradecimientos

Proyecto DGAPA-UNAM PAPIIT IN 101202

Del Centro de Física Aplicada y Tecnología Avanzada a:

Dr. Víctor Castaño Meneses
Dr. Achim Max Loske Mehling
Fís. Francisco Fernández Escobar
MVZ Oscar Hernández García
Ing. Arturo Méndez
Dr. Ulises Mora Álvarez
René Preza
Edgar Méndez

Al Dr. Jorge Gutiérrez

Al Bioterio del Instituto de Neurobiología de la UNAM

Del Hospital Ángeles de Querétaro a:

Dr. Miguel Isaías Paredes Serrano
Dr. Agustín Abortes Martínez

De la Universidad Autónoma de Querétaro
Posgrado de Química en Alimentos a:

Dr. Eduardo Castaño Tostado

De la Universidad Nacional Autónoma de México
Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia a:

Dr. Joaquín Aguilar Bobadilla

Dipl. Ing. Helmuth Busch por apoyo técnico especializado

Dewimed S.A. de C.V. por donar el Piezolith 2300 a la UNAM.

Resumen

En este proyecto de investigación se evaluó, desde el punto de vista histopatológico, si el generador de ondas de choque *tandem*, desarrollado en el Laboratorio de Ondas de Choque del Centro de Física Aplicada y Tecnología Avanzada de la UNAM, para litotripsia extracorporal, produce mayor o menor daño a los tejidos del riñón que el daño producido por los sistemas convencionales. Para ello se cuantificaron las lesiones renales histológicas agudas (7 días después de la aplicación de las ondas de choque) al usar un generador convencional y uno *tandem* en 15 conejos hembra sanos. Los sujetos experimentales se dividieron en 3 grupos de 5 conejos cada uno. Un grupo recibió tratamiento con el sistema convencional, otro grupo recibió tratamiento con el sistema *tandem* y el tercer grupo permaneció como control (siguió todo el procedimiento excepto la aplicación de ondas de choque). Los daños histológicos más evidentes fueron hematoma subcapsular, fibrosis capsular y hemorragia tubular. También se encontró dilatación tubular con aplanamiento del epitelio en el 60% de los riñones tratados con el sistema convencional y en sólo un riñón tratado con el sistema *tandem*. Todos los riñones tratados con ambos sistemas presentaron un hallazgo histológico anormal. El 80% de los riñones tratados con el sistema convencional presentaron más de dos lesiones histológicas y el 60% de los riñones tratados con el sistema *tandem* mostraron más de dos lesiones histológicas. Conclusión: El sistema *tandem* produce igual o menor daño histológico al riñón que el sistema convencional.

Palabras clave: ondas de choque *tandem*, litotripsia extracorporal, riñón, daño histológico, conejos.

Abstract

The goal of this project was to perform histopathologic studies to evaluate if *tandem* shock wave generators produce the same or less tissue damage during extracorporeal shock wave lithotripsy (ESWL) than conventional systems. Renal damages caused 7 days after shock wave treatment were studied. Fifteen healthy female rabbits were exposed to shock waves focused on the renal parenchyma. The animals were divided into three groups. The first group was treated with the conventional system, the second group was treated with the *tandem* system and the third group remained as control. The animals in this group were subjected to the entire procedure excluding the application of shock waves. The most striking histological lesions observed were subcapsular hematomas, capsular fibrosis, and tubular hemorrhage. Focal tubular dilation with flattening of the epithelium was another histological kidney damage on 60% of the kidneys treated with the conventional system. Only one kidney treated with the *tandem* system showed this feature. All kidneys had some abnormal histology. 80% of the kidneys treated with the conventional system presented more than two histological abnormalities and 60% of the kidneys treated with the *tandem* system showed more than two histological lesions. Conclusion: The *tandem* system produces equal or less histological kidney damage than the conventional system.

Keywords: *tandem* shock waves, extracorporeal shock wave lithotripsy (ESWL), kidney, tissue damage, rabbits.

ÍNDICE GENERAL

Resumen	I
<i>Abstract</i>	II
Índice general	III
Índice de figuras	IV
Índice de tablas	V
Introducción	1
Antecedentes y justificación	6
Hipótesis	8
Objetivo	8
Material y métodos	9
Procedimiento	10
Ensayos preliminares	10
a) Nefrectomía sin evidencia histológica de daño	10
b) Parámetros de ajuste	11
Preparación de los sujetos experimentales para el tratamiento de litotripsia extracorporeal con ondas de choque	12
a) Procedimiento anestésico	12
Lugar de realización de los tratamientos	13
Técnica usada en el laboratorio de histopatología	14
Evaluación de los hallazgos histopatológicos	15
Evaluación del daño renal	15
Resultados	16
a) Resultados del análisis histopatológico	16
b) Análisis estadístico	19

Discusión y conclusiones	27
Referencias bibliográficas	33

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Dibujo que muestra un generador de ondas de choque piezoeléctrico, el riñón a tratar y el paciente en posición de tratamiento.	3
Figura 2. Diagrama esquemático que muestra la compresión y expansión de la microburbuja al paso de una primera onda de choque y cómo una segunda onda de choque intensifica la compresión.	5
Figura 3. Fotografía que muestra el litotriptor Piezolith 2300 con sus diferentes componentes.	12
Figura 4 Progresión del daño morfológico después de la aplicación de ondas de choque .	28

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1 Resultado del análisis histopatológico. Sistema convencional	16
Tabla 2 Resultado del análisis histopatológico. Sistema <i>tandem</i>	17
Tabla 3 Resultado del análisis histopatológico. Controles	17
Tabla 4. Tabla de contingencia para hemorragia subcapsular	19
Tabla 5. Tabla de contingencia para fibrosis subcapsular	20
Tabla 6. Tabla de contingencia para hemorragia intraglomerular	21
Tabla 7. Tabla de contingencia para dilatación tubular	22
Tabla 8. Tabla de contingencia para hemorragia tubular	23
Tabla 9. Tabla de contingencia para dilatación tubular con aplanamiento del epitelio	24
Tabla 10. Tabla de contingencia para hemorragia intersticial	25
Tabla 11 Cambios renales morfológicos después de la aplicación de ondas de choque	29

Introducción

Los urolitos pueden ocasionar la pérdida de la función renal o del riñón como tal. Tradicionalmente, se han utilizado protocolos para disolver los cálculos o extraerlos por cirugía. Sin embargo, los protocolos de disolución de cálculos son efectivos solamente para remover urolitos compuestos de estruvita, cistina y uratos. Aunque la pielolitotomía, nefrotomía y ureterolitotomía son técnicas quirúrgicas efectivas para remover los urolitos, presentan numerosas desventajas asociadas con los procedimientos necesarios para efectuarlas, y pueden causar daño, e inclusive pérdida de la función renal (Block et al., 1996).

Existen diversas alternativas para el tratamiento de la litiasis corporal que afecta tanto al hombre como a los animales. Una de ellas es la litotripsia extracorporal con ondas de choque (LEOCH), que ha sido usada en humanos desde 1980 y se ha convertido en el tratamiento de elección para más del 80% de las personas que presentan nefrolitos y ureterolitos (Block et al., 1996). La LEOCH es una técnica no invasiva para el tratamiento de cálculos renales, biliares y salivales (Prieto y Loske, 1991; Loske y Prieto, 1995).

Continuamente se hacen modificaciones para mejorar la tecnología de los equipos de litotripsia extracorporal con ondas de choque. A pesar del éxito que ha tenido la litotripsia extracorporal en todo el mundo, se han reportado efectos secundarios (Begun et al., 1985; Gilbert et al., 1988). Estudios experimentales y clínicos han mostrado lesiones morfológicas y funcionales del parénquima renal, las cuales parecen ser transitorias (Roessler et al., 1996).

Otras aplicaciones de las ondas de choque que aún se están evaluando experimentalmente son el tratamiento de la trombosis y la posible transfección de células (Lauer et al., 1997). Se han realizado exitosamente experimentos sobre la transferencia de macromoléculas a células utilizando ondas de choque, esto con la finalidad de facilitar la entrada de medicamentos y la transferencia de genes a estas células (Gambihler et al., 1993; Delius et al., 1995; Lauer et al., 1997, Bao et al., 1998 y Armenta 2005).

Algunas enfermedades ortopédicas como la tendinitis calcificante del hombro y la pseudoartrosis, también pueden ser tratadas con ondas de choque (Loske, 2001). Otra posible aplicación de las ondas de choque, en fase de estudio, es la terapia antitumoral.

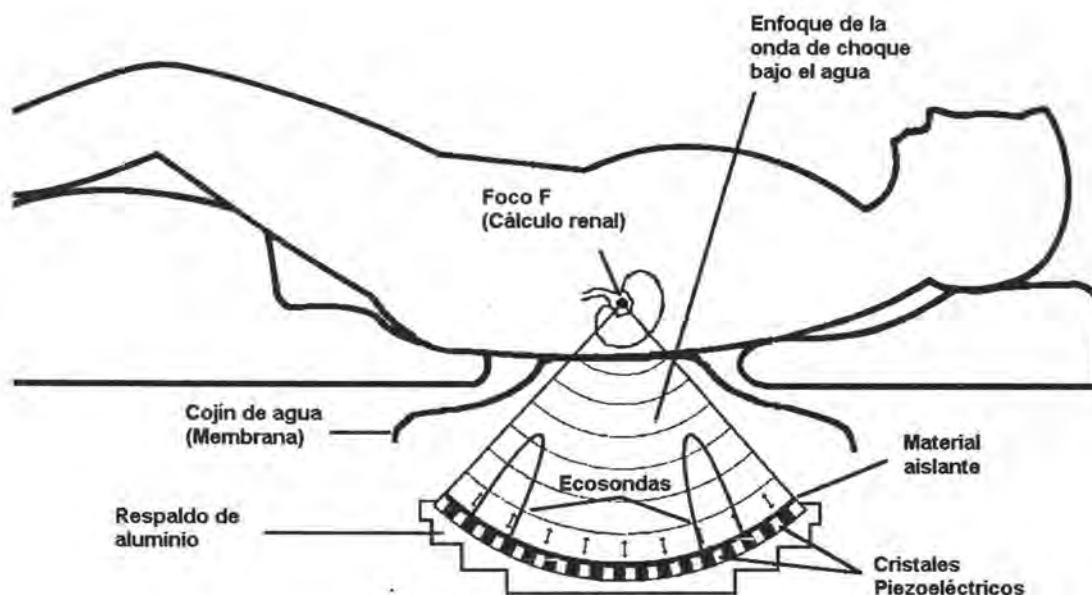
Una onda de choque es una onda mecánica, ya que requiere de un medio (sólido, líquido o gaseoso) para poder originarse y propagarse. Puede transportar energía y dependiendo de ésta se puede sentir su paso a través del cuerpo en mayor o menor grado. Las ondas de choque son una discontinuidad de presión, temperatura, densidad y otras propiedades termodinámicas que se propagan por un medio. Al pasar la onda de choque por un sitio dado, la presión en este medio aumenta repentinamente y después disminuye hasta llegar a su nivel inicial. A esto se le llama pulso de presión o frente de choque (Loske y Prieto, 1999). Para la litotripsia extracorporal existen diferentes sistemas de generación de ondas de choque: electromagnéticos, piezoeléctricos y electrohidráulicos. En esta tesis únicamente se describirá brevemente el sistema piezoeléctrico.

El sistema piezoeléctrico, (que es el sistema con el cual se trabajó en este experimento), funciona excitando un arreglo de hasta 3000 pequeños cristales piezoeléctricos montados sobre la superficie cóncava de un cascarón esférico de aluminio de aproximadamente 50 cm de diámetro (ver Figura 1.) Un cristal piezoeléctrico es un material que puede aumentar o disminuir repentinamente su tamaño. Estos cristales están recubiertos con un polímero aislante y flexible. Al aplicarles alto voltaje (6 a 10 kV), se expanden súbitamente, produciendo una onda de compresión. Las ondas de choque se generan en agua para reducir reflexiones al penetrar al cuerpo.

Las contribuciones de cada uno de los cristales se superponen, formando un frente de choque, que se concentra hacia el centro del arreglo, en donde debe ser colocado el cálculo a desintegrar. Para acoplar las ondas de choque al paciente, algunos equipos piezoeléctricos cuentan con una membrana de látex que cubre al generador (Loske y Prieto, 1999).

Otros aparatos, como el que se usó para este trabajo, tienen una abertura circular en la camilla, de manera que la sección de la piel del paciente por la que se desea acoplar las ondas de choque se pone directamente en contacto con el agua.

Figura 1. Dibujo que muestra un generador de ondas de choque piezoeléctrico, el riñón a tratar y el paciente en posición de tratamiento. En nuestro experimento el conejo toma el lugar del paciente.



Los principales mecanismos de destrucción de los cálculos durante una litotripsia extracorpórea son la compresión circunferencial (Loske y Prieto 1999; Loske 2001), el efecto Hopkinson (Loske y Prieto 1999; Loske, 2001) y la cavitación, es decir, la formación de burbujas al paso de cada onda de choque. Para fines de este protocolo el mecanismo más importante es la cavitación.

En el fluido (orina, sangre) que rodea al cálculo generalmente existen microburbujas. Estas burbujas se expanden abruptamente al paso de cada onda de choque y colapsan violentamente, produciendo microchorros de líquido a alta velocidad (aprox. 400 m/seg), creando daño al cálculo (Loske, 2001).

Al enviar una segunda onda de choque a pocos cientos de microsegundos después de la primera, se puede aumentar, en gran medida, la energía de colapso de las burbujas.

En 2001 Loske y colaboradores describieron un método novedoso (denominado *tandem*) para generar dos ondas de choque con el sistema piezoeléctrico (Loske et al., 2002a; Loske et al., 2002b). Este sistema emite parejas de ondas de choque con separación variable entre 50 y 950 microsegundos.

La mayor eficiencia de fragmentación en modelos de cálculos renales se logró enviando estas dos ondas de choque separadas aproximadamente 250 a 350 microsegundos una de la otra. Se espera que con este sistema se pueda reducir el tiempo de los tratamientos de litotripsia extracorporal.

El principio físico es el siguiente: Una onda de choque está formada por un pulso positivo, seguido de un pulso "negativo" o de tensión. Al paso de la primera onda de choque, el pulso positivo comprime las microburbujas que se encuentran en la vecindad del cálculo. Millonésimas de segundo después, la fase negativa de la onda de choque genera la expansión de estas burbujas.

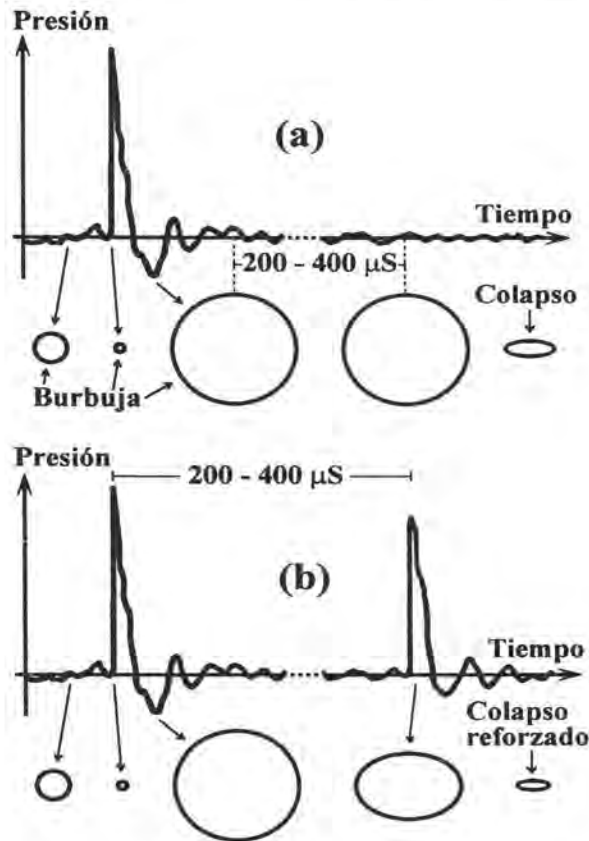
En algunas decenas de microsegundos, las burbujas adquieren un volumen miles de veces mayor. Después permanecen en una fase de equilibrio por algunos cientos de microsegundos, para finalmente colapsar de manera violenta (ver Figura 2a), emitiendo los ya mencionados chorros de líquido y ondas de choque secundarias. Si un instante antes, o durante, el colapso de las burbujas se hace pasar una segunda onda de choque, el pulso positivo de esta onda intensifica el colapso (ver Figura 2b) y la consecuente emisión de "microjets" y ondas de choque secundarias. El resultado es un mayor daño al cálculo

En vista de que en el tejido las burbujas de cavitación no pueden crecer con la misma facilidad que en un líquido (orina), se espera que los daños a los tejidos no aumenten con la aplicación de ondas de choque *tandem*.

Además, debe tomarse en cuenta que, debido a su mayor eficiencia, podría reducirse el número total de ondas aplicadas.

El objetivo principal de esta tesis fue mostrar que las ondas de choque *tandem* no aumentan significativamente el daño al tejido renal.

Figura 2. Diagrama esquemático que muestra la compresión y expansión de las microburbujas al paso de la primera onda de choque (a); y cómo una segunda onda de choque intensifica la compresión de la microburbuja (b).



El conejo ha sido utilizado como modelo animal para el estudio de los efectos que causa la LEOCH en la función y morfología renal (Gunasekaran et al., 1989; Van Arsdalen et al., 1991; Morris et al., 1991; Karalezli et al., 1993). Usando este modelo animal se ha demostrado la presencia de lesiones renales agudas y crónicas provocadas con tratamientos de LEOCH.

Utilizando al conejo como modelo animal, en otros estudios se ha mostrado la existencia de alteraciones morfológicas inducidas por los diferentes tipos de generadores de ondas de choque (Morris et al., 1991). En estos estudios se mostró que el sistema piezoeléctrico causó menor lesión renal (no se mostró evidencia de fibrosis subcapsular, sin embargo, se encontraron áreas de fibrosis parenquimatosa con un foco necrótico central) en comparación con los sistemas electrohidráulico y electromecánico, en los que se encontró una extensa área de fibrosis subcapsular.

En estudios recientes, utilizando al conejo, se ha mostrado que un tratamiento único con mayor número de ondas de choque provoca mayor lesión al parénquima renal, que un tratamiento con el mismo número de ondas de choque pero en sesiones separadas (Fuchs et al., 1988; Ryan et al., 1991).

De igual forma, utilizando al conejo como modelo animal, Morris et al., (1991) mostraron que el sistema piezoeléctrico induce un daño renal histológico permanente mínimo y que tratamientos separados provocan menor lesión renal que un tratamiento único con una cantidad excesiva de ondas de choque.

Antecedentes y justificación

En 1987 inició en el Instituto de Física de la UNAM el proyecto "Choques Débiles", que dio origen a la fundación del Laboratorio de Choques Débiles en 1988. Actualmente este laboratorio pertenece al Centro de Física Aplicada y Tecnología Avanzada de la UNAM con el nombre de Laboratorio de Ondas de Choque. Una de las motivaciones para la creación de este laboratorio fueron las aplicaciones médicas de las ondas de choque a la desintegración de cálculos renales y/o biliares sin cirugía (*litotripsia extracorporal*), mismas que se han desarrollado durante los últimos veinte años, principalmente en Europa y en los Estados Unidos.

Los objetivos principales del Laboratorio de Ondas de Choque son el desarrollo de principios físicos novedosos para ser instalados en los equipos clínicos de litotripsia extracorporal, con la finalidad de reducir el tiempo de tratamiento y los daños creados a órganos y tejidos. Por otro lado, se pretende encontrar nuevas aplicaciones de ondas de choque a diferentes campos de la física, medicina y química.

En este laboratorio paralelamente se investiga la posible aplicación de las ondas de choque en la conservación o esterilización de fármacos y alimentos.

En el Laboratorio de Ondas de Choque también se estudia la transferencia genética con ondas de choque, con la finalidad de lograr tratamientos más eficientes en oncología y posibles terapias genéticas en vivo. De igual forma, se estudia la aplicación de las ondas de choque a implantes de hidroxiapatita, ya que las ondas de choque han mostrado inducir la osteogénesis en pacientes con fracturas que no presentan cicatrización o que sufren de cicatrización retardada.

Al mismo tiempo se han desarrollado innovaciones a los principios físicos de la generación de ondas de choque para LEOCH, con la finalidad de minimizar el daño provocado a los tejidos, reduciendo el tiempo de tratamiento. En el Laboratorio de Ondas de Choque se han realizado estudios experimentales utilizando reflectores bifocales y se ha mostrado que éstos generan un daño renal igual o de menor grado que con los reflectores convencionales (Zendejas, 2001). Esto proporciona un panorama alentador, ya que experimentalmente se ha demostrado que el reflector bifocal es más eficiente para destruir cálculos renales (Loske, 2001).

Recientemente existe preocupación en el ámbito internacional, ya que se ha demostrado que los equipos de litotripsia de última generación producen mayor daño a los tejidos renales y no son más eficientes que los de primera generación. Esto justifica el desarrollo de proyectos de investigación como el que se presenta en esta tesis.

Hipótesis

Los generadores de ondas de choque (modificados) *tandem* producen igual o menor daño histopatológico al tejido renal, que los sistemas de generación de ondas de choque piezoeléctricos convencionales (no modificados).

Objetivo

Comprobar experimentalmente, desde el punto de vista histopatológico, la hipótesis planteada, con miras a la posterior aplicación clínica de los generadores de ondas de choque piezoeléctricos *tandem*.

Material y métodos

- *18 conejos adultos, hembras de la raza Nueva Zelanda blanco
- *2 envases de solución antiséptica de yodopovidona (Isodine espuma), de 3.8 litros
- *2 envases de 3.8 litros de cloruro de benzalconio (Benzal) a una concentración de 1 ml de Benzal en 100 ml de agua
- *50 jeringas de 10 ml, estériles con aguja
- *300 jeringas de 5 ml, estériles con aguja
- *300 jeringas de 3 ml, estériles con aguja
- *80 jeringas estériles para tuberculina de 1 ml con aguja de 25mm x 16 mm
- *1 frasco de hidrocioruro de xilazina (Sedazine)
- *10 unidades de anestésico a base de hidrocioruro de ketamina
- *2 frascos de maleato de acepromazina de 50 ml.
- *10 frascos de pentobarbital sódico (Anestesal) de 100ml
- *50 pares de guantes estériles unitalla
- *Instrumental de cirugía general
- *1 litotriptor *Piezolith* 2300, marca Richard Wolf GmbH, con generador piezoeléctrico modificado y convencional (no modificado).
- *40 sobres de material de sutura de Vicryl calibre 2-0
- *2 carretes de material de sutura nylon de 2-0
- *50 recipientes de vidrio y de boca ancha, (para colocar los riñones ya extraídos)
- *20 litros de formol al 10%

(Todo el material fue proporcionado por el Laboratorio de Ondas de Choque del CFATA-UNAM)

Procedimiento

Los conejos fueron adquiridos en la empresa BIOTINOX, S.A. de C.V., ubicada en Coyoacán, México, D.F..

Los conejos se alojaron en jaulas lavadas y sanitizadas con espacio suficiente para el bienestar de los animales y con libre acceso a agua limpia y fresca y alimento. Las jaulas se localizaron en las instalaciones del Bioterio del Instituto de Neurobiología de la UNAM, *campus* Juriquilla, Querétaro. Todos los conejos fueron alimentados y cuidados en el bioterio y se retiraron del mismo los días de experimentación para ser trasladados al Laboratorio de Ondas de Choque del Centro de Física Aplicada y Tecnología Avanzada, ubicado en el mismo *campus*.

A cada sujeto experimental se le abrió una hoja individual de récord clínico en la cual se anotaron los resultados de reseña (número de identificación, raza, edad aproximada, sexo, peso).

Día cero: llegada de los conejos al bioterio.

Día uno, dos y tres: periodo de adaptación.

Día cuatro (aplicación de las ondas de choque).

Ensayos preliminares

a) Nefrectomía sin evidencia histológica de daño

En esta etapa se realizó nefrectomía en 3 conejos teniendo especial cuidado en la manipulación de los riñones durante y después de la cirugía, con el fin de evidenciar la inexistencia de daño, tanto macroscópico como histológico, causado por el procedimiento quirúrgico.

b) Parámetros de ajuste

En esta etapa fue necesario realizar ensayos preliminares con el litotriptor que se utilizó en este experimento, con la finalidad de determinar el número de descargas y el voltaje aplicado, necesarios para causar un daño perfectamente identificable.

Se aplicaron 700, 1200 y 1700 ondas de choque, dirigidas hacia la región media renal, usando únicamente el sistema convencional en tres conejos. Cada conejo recibió diferente número de ondas de choque. El voltaje se mantuvo constante.

Los sujetos experimentales se trataron con un litotriptor piezoeléctrico modelo *Piezolith 2300* (Richard Wolf GMBH, Knittlingen, Alemania) (ver Figura 3), con los siguientes parámetros de ajuste: 7,670 voltios a una frecuencia de 7 ondas de choque cada 10 segundos. El riñón se visualizó utilizando el sistema de ultrasonido del litotriptor.

Solamente se le aplicaron ondas de choque al riñón izquierdo; ya que su situación anatómica (se encuentra más caudal que el derecho) facilita la aplicación de las ondas de choque, sin posible interferencia del arco costal (Morris et al., 1991a y Morris, et al., 1991b).

El número de ondas de choque aplicado a los conejos de la etapa principal del experimento (5 conejos con sistema convencional, 5 conejos con sistema *tandem* y 5 conejos control) se determinó con base en los resultados obtenidos en la evaluación histopatológica de la aplicación de diferentes números de ondas de choque. En la evaluación histopatológica se encontró que con 300 ondas de choque con el sistema convencional se presentó una lesión renal histológica perfectamente identificable.

Figura 3. Fotografía que muestra el litotriptor *Piezolith 2300* con sus diferentes componentes.



Preparación de los sujetos experimentales para el tratamiento de litotripsia extracorporeal con ondas de choque:

Procedimiento anestésico: Los animales se anestesiaron con una infusión que contiene: 5 ml de ketamina (500 mg), 1.6 ml de xilazina (160 mg), y 2 ml de maleato de acepromazina (20 mg), administrada vía intramuscular a una dosis de 1 ml por kilogramo de peso vivo. La dosis de mantenimiento fue de 1 ml/kg IM cada hora, o según fuera necesario (Gunasekaran et al., 1989).

Se preparó al sujeto experimental realizando antisepsia de la zona donde anteriormente se practicó la tricotomía.

Se realizó el tratamiento de litotripsia extracorporeal con ondas de choque por separado al riñón izquierdo de cada animal.

El experimento se llevó a cabo de la siguiente manera: Todos los sujetos experimentales pasaron por todo el procedimiento (día cero al tercero), se les dio tratamiento con ondas de choque (a excepción de los sujetos control) y 7 días después se practicó la nefrectomía bilateral y eutanasia. Quince conejos se dividieron en tres grupos de 5 conejos cada uno. Un grupo recibió tratamiento con ondas de choque con el sistema convencional y otro grupo con el sistema *tandem*; el tercer grupo permaneció como control.

El grupo control siguió todo el procedimiento excepto la aplicación de ondas de choque.

Lugar de realización de los tratamientos con ondas de choque: Los tratamientos con ondas de choque realizaron en el Laboratorio de Ondas de Choque del Centro de Física Aplicada y Tecnología Avanzada de la Universidad Nacional Autónoma de México *campus* Juriquilla, Qro. México. Al término de la aplicación de ondas de choque se trasladaron los sujetos experimentales al Bioterio del Instituto de Neurobiología de la UNAM, donde se alojaron en jaulas individuales y recibieron cuidados postoperatorios durante un periodo de 7 días. Posteriormente, fueron trasladados al quirófano del Laboratorio de Ondas de Choque, donde pasaron por el procedimiento anestésico y se les practicó la nefrectomía bilateral. Al término de ésta a cada sujeto experimental se le practicó la eutanasia con una sobredosis de pentobarbital sódico.

Todos los procedimientos fueron realizados respetando el Reglamento de la Comisión Mixta de Seguridad e Higiene del CFATA, el Reglamento Interno del Laboratorio de Ondas de Choque, el Reglamento para el Cuidado de los Animales de Laboratorio de la UNAM, así como la Norma Oficial Mexicana NOM-087-ECOL-1995, que establece los requisitos para la separación, envasado, almacenamiento, recolección, transporte, tratamiento y disposición final de los residuos peligrosos biológico-infecciosos que se generan en establecimientos que prestan atención médica.

Nefrectomías

La técnica de nefrectomía utilizada fue la descrita por (Kaplan et al., 1979; Archibald, 1974; Alexander, 1989; Bojrab, 1992), con abordaje quirúrgico a través de la línea media abdominal.

Al obtener las muestras de ambos riñones, se observan cuidadosamente en busca de lesiones macroscópicas, y se colocan en su respectivo recipiente (previamente identificado).

A pesar de que el riñón derecho no recibió tratamiento con ondas de choque, estuvo sujeto a evaluación debido a que es un control dentro del mismo conejo, lo cual es de utilidad para descartar efectos no atribuibles al tratamiento *per se* y garantiza que lo que se observa no es producto de la casualidad, evitando así confusiones y explicaciones alternativas (Robinson, 2000).

Posteriormente, se enviaron al Laboratorio de Histopatología del Hospital Ángeles de Querétaro, para evaluar los daños renales causados por el tratamiento con ondas de choque.

Los riñones se colocaron en un envase con formol al 10% en proporción 10:1 (10 veces el volumen del fijador por uno de la muestra), para evitar la descomposición de la muestra. En una hoja aparte se registró la identificación del riñón: 1.-izquierdo, 2.-derecho, 3.-registro de cuál generador de ondas de choque se utilizó (este dato no fue conocido por el patólogo que realizó los estudios de histopatología).

Técnica usada en el laboratorio de histopatología

Se realizaron cortes longitudinales de 3 mm de espesor en todo el riñón (Gunasekaran et al., 1989). Se seleccionaron cortes con especial atención en la región tratada con ondas de choque.

El procedimiento se llevó a cabo de forma ciega, sin conocimiento de la modalidad del tratamiento por quien preparó las muestras.

Las muestras se procesaron por el método de inclusión en parafina. Una vez que las muestras a estudiar se incluyeron en parafina, se procedió al corte. Los cortes se realizaron de 4 a 7 micras de grosor (Goddard,1990; Lee and Luna,1968).

Se utilizó la técnica de tinción de H y E. Ésta ha sido utilizada por varios autores (Delius et al., 1988; Deluis et al., 1990; Koga et al., 1996 y Goujon et al.,1999; Gunasekaran et al. 1989; van Arsdalen et al., 1991; Morris et al.,1991 y Karalezli et al.,1993) para evaluar daño histopatológico a los riñones, motivo por el cual se considera confiable para su aplicación en este experimento.

Evaluación de los hallazgos histopatológicos

Con el fin de evaluar los daños histopatológicos renales causados por los dos sistemas (convencional y *tandem*) se consideraron los cambios renales morfológicos a los 7 días después de la aplicación de las ondas de choque.

Evaluación del daño renal

Esta evaluación se llevó a cabo solamente por una persona. Con referencia a trabajos anteriores sobre la evaluación del daño renal causado por tratamientos de litotripsia extracorporeal con ondas de choque se distinguió la presencia o ausencia de la lesión renal, basándonos en lo reportado por Gunasekaran et al., (1989) y Karalezli et al., (1993). Las lesiones renales analizadas fueron las siguientes:

1. Hemorragia subcapsular.
2. Fibrosis capsular.
3. Hemorragia tubular.
4. Dilatación tubular.
5. Dilatación tubular con aplanamiento del epitelio.
6. Hemorragia intersticial.
7. Hemorragia intraglomerular.

Este sistema de evaluación se complementó con una medición en intensidad para cada una de las lesiones renales señaladas anteriormente: (-) ausencia de daño, (+) leve, (++) moderado, (+++)severo.

Resultados

a) Resultado del análisis histopatológico

Nota: En las 3 tablas, las letras (i) y (d), situadas a un lado del número de identificación del conejo, corresponden al riñón izquierdo, es decir, el tratado (i) y al riñón derecho (d) que no fue tratado.

Tabla 1. Resultados del análisis histopatológico realizado a los riñones de conejos tratados con el sistema convencional

lesión/número de identificación del conejo	4i ¹	4d ¹	11i	11d	12i	12d	13i	13d	19i	19d
<i>Hemorragia subcapsular</i>	+	-	-	-	+	-	+	-	+	-
<i>Fibrosis capsular</i>	+	-	-	-	+	-	+	-	+	-
<i>Hemorragia tubular</i>	++	-	-	-	+	-	+	-	+	-
<i>Dilatación tubular</i>	+	+	+	-	+	-	+	-	+	+
<i>Dilatación tubular con Aplanamiento del epitelio</i>	-	-	-	-	+	-	+	-	+	-
<i>Hemorragia intersticial</i>	+	-	-	-	-	-	+	-	+	-
<i>Hemorragia intraglomerular</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

¹ Este conejo presentó hematuria 1.5 hrs después del tratamiento con ondas de choque.

Tabla 2. Resultados del análisis histopatológico realizado a los riñones de conejos tratados con el sistema *tandem*

lesión/número de identificación del conejo	14i	14d	15i	15d	16i	16d	17i	17d	18i	18d
<i>Hemorragia sub capsular</i>	+	-	+	-	-	-	+	-	+	-
<i>Fibrosis capsular</i>	+	-	+	-	-	-	+	-	+	-
<i>Hemorragia tubular</i>	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-
<i>Dilatación tubular</i>	+	-	-	+	+	-	+	+	+	+
<i>Dilatación tubular con Aplanamiento del epitelio</i>	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-
<i>Hemorragia intersticial</i>	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-
<i>Hemorragia intraglomerular</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Tabla 3. Resultados del análisis histopatológico realizado a los riñones de conejos utilizados como controles

lesión/número de identificación del conejo	6i	6d	7i	7d	8i	8d	9i	9d	10i	10d
<i>Hemorragia subcapsular</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Fibrosis capsular</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Hemorragia tubular</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Dilatación tubular</i>	-	-	+	-	-	-	-	-	+	+
<i>Dilatación tubular con Aplanamiento del epitelio</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Hemorragia intersticial</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Hemorragia intraglomerular</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

En todos los casos (sistema convencional y sistema *tandem*) el riñón tratado fue el izquierdo.

Simbología:

- | | |
|---------------------------|--------------------------|
| (+) = daño leve. | (i) = riñón izquierdo. |
| (++) = daño moderado. | (d) = riñón derecho. |
| (+++) = daño severo. | |
| (-) = ausencia de daño. | |

Del análisis de las tablas 1 y 2 se deduce que:

A los 7 días del tratamiento, los riñones que recibieron ondas de choque mostraron su morfología macroscópica alterada. El 80% de los riñones tratados con el sistema convencional presentaron hematoma subcapsular. La misma situación se presentó en los riñones tratados con el sistema *tandem* en los cuales el 80% de los riñones presentaron hematoma subcapsular.

Las lesiones histológicas más evidentes, encontradas en todos los riñones tratados, fueron: hemorragia subcapsular, fibrosis capsular y hemorragia tubular.

En uno de los riñones tratados con el sistema convencional se presentó hemorragia tubular moderada, mientras que en los 4 riñones restantes tratados con este sistema se apreció al examen microscópico hemorragia tubular leve.

En los riñones tratados con el sistema *tandem* sólo uno presentó hemorragia tubular leve y los otros 4 riñones tratados con este sistema no presentaron hemorragia tubular.

Otra lesión renal histológica que se presentó en 3 de los riñones tratados con el sistema convencional y en solamente un riñón tratado con el sistema *tandem* fue la dilatación tubular con aplanamiento del epitelio. Ésta usualmente involucra varios grupos de túbulos adyacentes con grupos de túbulos normales, algunos de estos túbulos presentan cierta cantidad de sangre en su interior.

En todos los riñones tratados con ambos sistemas se evidenció lesión histológica.

El 80% de los riñones tratados con el sistema convencional presentó más de dos anormalidades histológicas y sólo el 60% de los riñones tratados con el sistema *tandem* mostraró más de dos lesiones histológicas.

b) Análisis estadístico

Tabla 4. Tabla de contingencia para hemorragia subcapsular

Tratamiento / hemorragia subcapsular

Conteo	+	-	
Total %			
Col %			
Fila %			
c	4	1	5
	40.00	10.00	50.00
	50.00	50.00	
	80.00	20.00	
t	4	1	5
	40.00	10.00	50.00
	50.00	50.00	
	80.00	20.00	
	8	2	10
	80.00	20.00	

Prueba exacta de Fisher	Prob
Izquierda	0.7778
Derecha	0.7778
2-colas	1.0000

**ESTA TESIS NO SALE
DE LA BIBLIOTECA**

Tabla 5. Tabla de contingencia para fibrosis subcapsular
Tratamiento/fibrosis subcapsular

Conteo	+	-	
Total %			
Col %			
Fila %			
c	4	1	5
	40.00	10.00	50.00
	50.00	50.00	
	80.00	20.00	
t	4	1	5
	40.00	10.00	50.00
	50.00	50.00	
	80.00	20.00	
	8	2	10
	80.00	20.00	

Prueba exacta de Fisher	Prob
Izquierda	0.7778
Derecha	0.7778
2-colas	1.0000

Tabla 6. Tabla de contingencia para hemorragia intraglomerular
 Tratamiento / hemorragia intraglomerular

Conteo	-	
Total %		
Col %		
Fila %		
c	5	5
	50.00	50.00
	50.00	
	100.00	
t	5	5
	50.00	50.00
	50.00	
	100.00	
	10	10
	100.00	

Tabla 7. Tabla de contingencia para dilatación tubular

Tratamiento/dilatación tubular

Conteo	+	-	
Total %			
Col %			
Fila %			
C	5	0	5
	50.00	0.00	50.00
	55.56	0.00	
	100.00	0.00	
T	4	1	5
	40.00	10.00	50.00
	44.44	100.00	
	80.00	20.00	
	9	1	10
	90.00	10.00	

Prueba exacta de Fisher	Prob
Izquierda	1.0000
Derecha	0.5000
2-Colas	1.0000

Tabla 8. Tabla de contingencia para hemorragia tubular

Tratamiento/hemorragia tubular

Chi² .05,2 = 5.991. P < 0.05

Count	+	++	-	
Total %				
Col %				
Fila %				
c	3	1	1	5
	30.00	10.00	10.00	50.00
	75.00	100.00	20.00	
	60.00	20.00	20.00	
t	1	0	4	5
	10.00	0.00	40.00	50.00
	25.00	0.00	80.00	
	20.00	0.00	80.00	
	4	1	5	10
	40.00	10.00	50.00	

Tabla 9. Tabla de contingencia para dilatación tubular con aplanamiento del epitelio

Tratamiento/dilatación tubular

Conteo	+	-	
Total %			
Col %			
Fila %			
c	3	2	5
	30.00	20.00	50.00
	75.00	33.33	
	60.00	40.00	
t	1	4	5
	10.00	40.00	50.00
	25.00	66.67	
	20.00	80.00	
	4	6	10
	40.00	60.00	

Prueba exacta de Fisher	Prob
Izquierda	0.9762
Derecha	0.2619
2-Colas	0.5238

Tabla 10. Tabla de contingencia para hemorragia intersticial
Tratamiento/hemorragia intersticial

Conteo	+	-	
Total %			
Col %			
Fila %			
c	3	2	5
	30.00	20.00	50.00
	75.00	33.33	
	60.00	40.00	
t	1	4	5
	10.00	40.00	50.00
	25.00	66.67	
	20.00	80.00	
	4	6	10
	40.00	60.00	

Prueba exacta de Fisher	Prob
Izquierda	0.9762
Derecha	0.2619
2-Colas	0.5238

Respecto a los tres tipos de lesión renal: hemorragia subcapsular, fibrosis capsular y hemorragia intratubular, se observa directamente que ambos tratamientos son equivalentes (debido a esto no es necesario realizar prueba estadística) porque son numéricamente iguales los perfiles de lesión entre tratamientos.

En el caso de dilatación tubular, sin ser equivalentes es claro que tienen prácticamente los mismos efectos.

En el caso de hemorragia intratubular, dilatación tubular con aplanamiento del epitelio y hemorragia intersticial, se muestra una tendencia de que el sistema *tandem* produce menor lesión renal que el sistema convencional.

Observación: Los conejos 11 y 16 son atípicos al no presentar lesión renal salvo dilatación tubular. Omitiéndolos del análisis estadístico no hay cambios en las conclusiones.

Las lesiones por dilatación tubular se muestran en diversos riñones derechos no tratados y en algunos de los controles.

Los niveles Prob son valores p ; entre más grandes, mayor la evidencia de que la distribución de lesión renal entre los conejos no depende del método de generación de ondas de choque aplicado.

En todos los casos se utilizó la prueba exacta de Fisher para tablas de contingencia 2×2 . Para el caso de hemorragia intratubular, sólo se describieron los resultados numéricos de la tabla de contingencia respectiva.

Discusión y conclusiones:

A pesar del éxito de la litotripsia extracorporeal con ondas de choque en la destrucción de cálculos renales, se han publicado varios estudios clínicos y experimentales en los que se muestra que la LEOCH causa daño morfológico y fisiológico al riñón sometido a ondas de choque (Karalezli et al, 1993; Kaude et al, 1985; Gunasekaran et al, 1989.) Esto demuestra que, no obstante el desarrollo tecnológico, los principios básicos de la generación de ondas de choque no han cambiado y no han mejorado los resultados clínicos.

Generalmente se observa hematuria macroscópica transitoria en la mayoría de los pacientes después de un tratamiento con LEOCH.

De la misma manera, en los experimentos antes mencionados, algunos de los riñones expuestos a LEOCH mostraron hemorragias intersticiales con restos de eritrocitos y desechos celulares en los túbulos.

Karlsen, et al., 1991, mostraron que la hemorragia está relacionada a daño en arterias, capilares y venas.

Recker, et al., en 1992, reportaron que la fibrosis intersticial comprime las arterias y disminuye el flujo sanguíneo. Sin embargo, Koga, et al. 1996, mostraron que la estenosis arterial y la obstrucción con hinchazón y estratificación de las células endoteliales fueron los factores predominantes que causaron el decremento del flujo sanguíneo. Estos hallazgos, también se observaron en áreas de mínima fibrosis.

La obstrucción y angiólisis de las arteriolas, así como de las arterias interlobulares conducen a hipoxia y colapso del glomérulo, lo que causa glomerulosclerosis.

La dilatación tubular presentada en varios riñones derechos (no tratados) y en algunos controles puede ser explicada debido a la insuficiencia renal aguda derivada del choque hipovolémico pre y trans operatorio al momento de realizar las nefrectomías. Durante la insuficiencia renal aguda el riñón se presenta grande, tumefacto y congestionado, aunque la corteza puede ser pálida.

Al corte transversal aparece acumulación de sangre en la parte más externa de la médula.

A la microscopía óptica, la necrosis tubular aguda plenamente desarrollada se manifiesta con dilatación de los túbulos contorneados proximales y necrosis celular focal. Muchas veces los cilindros pigmentados en el lumen de los túbulos indica filtración de hemoglobina o mioglobina (Rubin y Farber 1992).

En la figura 4 se muestra cómo va progresando teóricamente el daño a los tejidos y en la tabla 4 se muestran los cambios renales morfológicos después de un tratamiento con LEOCH (Koga, et al., 1996).

Figura 4 Progresión del daño morfológico después de la aplicación de ondas de choque (Koga *et al.*, 1996).

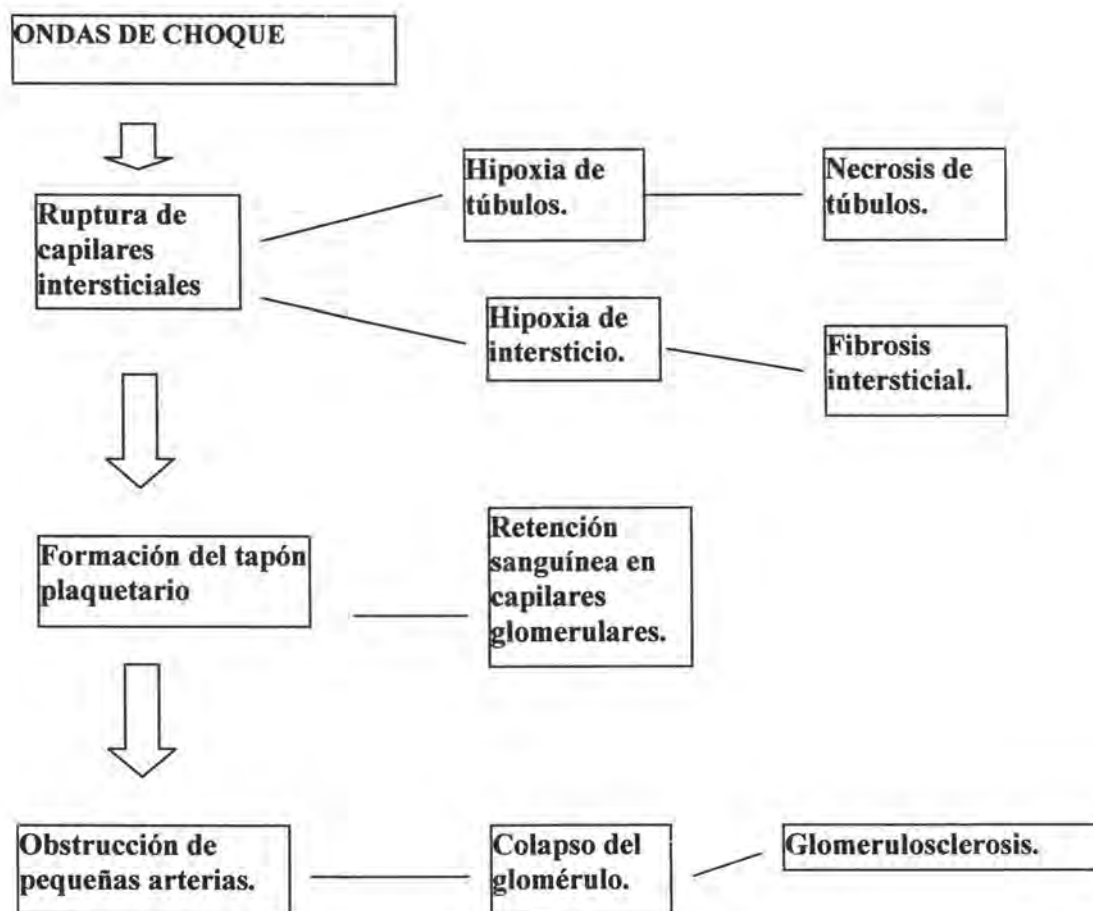


Tabla 11 Cambios renales morfológicos después de la aplicación de ondas de choque (Koga *et al.*, 1996)..

Análisis/Tiempo de realización	Inmediatamente	Después de 3 días	Después de 7 días	Después de 60 días
Hallazgos anatómicos macroscópicos	<ul style="list-style-type: none"> ★ Hinchado edematoso. ★ Hemorragia capsular y subcapsular. ★ Focos hemorrágicos en corteza y médula. 	<ul style="list-style-type: none"> ★ Desaparición del edema parenquimal. 	<ul style="list-style-type: none"> ★ Absorción de los focos hemorrágicos 	<ul style="list-style-type: none"> ★ Cicatrices que fueron duras y blancas.
Vasos sanguíneos	<ul style="list-style-type: none"> ★ Ruptura de capilares intersticiales ★ Dilatación venosa. ★ Obstrucción de capilares peritubulares con formación del tapón plaquetario. 	<ul style="list-style-type: none"> ★ Dilatación parcial y colapso de capilares y pequeñas venas. 	<ul style="list-style-type: none"> ★ Proliferación de músculo liso en la túnica media de pequeñas arterias. 	<ul style="list-style-type: none"> ★ Obstrucción de pequeñas arterias con estratificación de células endoteliales. ★ Degeneración fibrosa.
Glomérulo	<ul style="list-style-type: none"> ★ Hinchazón y fusión de podocitos. ★ Vacuolización de células endoteliales. 	<ul style="list-style-type: none"> ★ Pérdida de podocitos. ★ Colapso de capilares. ★ Trombosis en capilares glomerulares. 	<ul style="list-style-type: none"> ★ Glomerulosclerosis parcial. 	<ul style="list-style-type: none"> ★ Atrofia de células endoteliales. ★ Hinchazón de células epiteliales. ★ Fusión de podocitos. ★ Glomerulosclerosis.
Lumen tubular	<ul style="list-style-type: none"> ★ Dilatación tubular. ★ Restos de eritrocitos. 	<ul style="list-style-type: none"> ★ Restos de eritrocitos y materiales eosinofílicos. ★ Estancamiento del flujo urinario. 	<ul style="list-style-type: none"> ★ Células fantasmas. ★ Restos de estructuras celulares. 	<ul style="list-style-type: none"> ★ Macrófagos en el lumen.
Células tubulares	<ul style="list-style-type: none"> ★ Vacuolización. ★ Mitocondria alterada (hinchazón, pérdida de la matriz y membranas marginales) 	<ul style="list-style-type: none"> ★ Hinchazón de células tubulares. ★ Marcada vacuolización. 	<ul style="list-style-type: none"> ★ Aglobamiento de microvellosidades. ★ Degeneración grasa. ★ Lisosomas secundarios. 	<ul style="list-style-type: none"> ★ Pérdida de células tubulares. ★ Restos de membranas basales.
Intersticio	<ul style="list-style-type: none"> ★ Edema intersticial. ★ Extravasación de eritrocitos. ★ Hemorragia intersticial. 	<ul style="list-style-type: none"> ★ Aparición de fibroblastos. ★ Extravasación de eritrocitos. 	<ul style="list-style-type: none"> ★ Membranas basales fragmentadas de las células tubulares. 	<ul style="list-style-type: none"> ★ Fibrosis intersticial difusa. ★ Depósitos de hemosiderina.

Estudios previos *in vitro* con los generadores de ondas de choque de fase dual mostraron que se puede intensificar la destrucción de algunos cálculos si se selecciona apropiadamente el tiempo de retardo entre la primera y la segunda onda de choque (Loske y Prieto 1996; Prieto y Loske 1999 y Solokov et al, 2001.)

Con base en estudios publicados previamente sobre los aspectos físicos de las ondas de choque (Loske *et al*, 2002), se diseñó en el Laboratorio de Ondas de Choque del CFATA de la UNAM un litotriptor piezoeléctrico novedoso tipo *tandem*.

Los experimentos de fragmentación de cálculos *in vitro* realizados por Loske y colaboradores en el año 2002 revelaron que la destrucción de los cálculos se incrementa de manera significativa enviando la segunda onda de choque 250 microsegundos después de la primera. Se cree que esto se debe a que se estimula el colapso de las burbujas mediante el mecanismo de cavitación. Cuando es muy corto el tiempo de retraso entre el primer y segundo pulso, el pico positivo de la segunda onda de choque impide la expansión de las burbujas. Si el tiempo de retraso es muy largo, la segunda onda de choque llega después de que la burbuja colapsó y, por lo tanto, no estimula su colapso.

La intensidad del colapso de las burbujas aumenta con la presión generada por las ondas de choque.

El objetivo principal de este trabajo experimental fue demostrar que las ondas de choque *tandem* no aumentan significativamente el daño al tejido renal. Hasta donde tenemos información, este es el primer estudio *in vivo* en el que se evalúa el daño al tejido renal causado por tratamientos con ondas de choque generadas con un sistema piezoeléctrico *tandem*.

Los efectos histopatológicos en riñones de conejo causados por tratamientos con ondas de choque, han sido estudiados por varios autores (Karalezli *et al*, 1993; Saitoh *et al*, 1992; Morris *et al*, 1991^a; Morris *et al*, 1991^b; Van Arsdalen *et al*, 1991; Gunasekaran *et al*, 1989), lo que indica que el conejo es un modelo animal válido para la realización de este trabajo experimental.

Karalezli *et al.*,(1993) y Gunasekaran *et al.*,(1989) mostraron la presencia de cambios morfológicos en los riñones de conejo siete días después del tratamiento con ondas de choque.

Nuestros estudios preliminares revelaron efectos similares. Debido a esto, decidimos practicar la eutanasia a los animales a los 7 días del tratamiento con ondas de choque.

Los resultados *in vivo* indican que el sistema de generación de ondas de choque *tandem* no produce lesiones renales de mayor grado que el sistema convencional.

Tomando en consideración que con el sistema *tandem* sería necesario aplicar una menor cantidad de ondas de choque para la destrucción de los cálculos renales, se podría lograr una reducción de daño al tejido renal.

Puesto que el periodo de tiempo entre la primera y la segunda onda de choque en el sistema *tandem* puede ser controlado, este litotriptor piezoeléctrico modificado podría ser usado para determinar el periodo de tiempo ideal entre la primera y la segunda onda de choque necesario para la destrucción de cálculos de diferentes composiciones.

En el futuro, la posibilidad de controlar los tiempos entre una onda de choque y otra se puede usar para diseñar litotriptores electrohidráulicos mejorados, abriendo la posibilidad de ajustar los tiempos de retraso de acuerdo al tamaño, forma, localización y composición del cálculo.

Es bien sabido que la cavitación tiene un rol preponderante en la destrucción del cálculo (Evan *et al.*, 2002); sin embargo, la cavitación también puede producir lesiones al tejido renal. Afortunadamente los espacios con fluido en los tejidos blandos son muy pequeños y esto limita la cavitación (Carstensen *et al.*, 2000.) Debido a la naturaleza de los tejidos, las burbujas de cavitación se comportan de manera diferente que en el fluido que rodea al cálculo. Además, debido a que en los tejidos *in vivo* se restringe la expansión de las burbujas, el colapso de las burbujas es menos violento que en el agua o en la orina (Zhong *et al.*, 1997.)

Insertar un recubrimiento dentro del reflector de un litotriptor HM3 o un segundo generador de ondas de choque (arreglo de cristales piezoeléctricos), como lo sugieren Zhou *et al* (2004), es más caro y consume una mayor cantidad de tiempo que generar electrónicamente los retrasos de tiempo entre una onda y otra, como se propone en este trabajo experimental.

Los principios físicos básicos descritos y probados en este trabajo experimental podrían ser aplicados a los litotriptores electrohidráulicos estándar. Los reflectores compuestos (Prieto y Loske, 1999) o los generadores de pulso podrían ser instalados sin la necesidad de cambiar el diseño general del litotriptor.

Es indispensable la realización de más estudios *in vivo* para determinar la utilidad clínica de los generadores de ondas de choque *tandem*. Los generadores *tandem* también podrían ser de utilidad durante la exposición de células aisladas y microorganismos (Álvarez *et al.*, 2004; Loske, Prieto, Zavala, Santana, y Armenta, 1999; Loske, Prieto, Zavala, Santana, y Armenta, 2004; Loske, Álvarez, Hernández-Galicia, Castaño-Tostado, Prieto, 2002.)

De acuerdo con los resultados que se obtuvieron en este estudio, es posible concluir que los litotriptores *tandem* podrían mejorar la eficiencia de destrucción de los cálculos renales, sin causar mayor daño a los tejidos.

Para probar la seguridad de esta técnica en el tratamiento de cálculos renales en humanos es indispensable realizar más estudios *in vivo*.

Referencias bibliográficas:

Alexander, A. 1989. Técnica Quirúrgica en Animales. 6ª. Edición. Edit. Interamericana McGraw-Hill. México. pp. 177-181.

Álvarez, U. M., Loske, A. M., Castaño-Tostado, E. and Prieto, F. E.: Inactivation of *Escherichia coli* O157:H7, *Salmonella Typhimurium* and *Listeria monocytogenes* by underwater shock waves. *Innov Food Science & Emerg Technol*, **5**: 459, 2004

Anderson, KR, Kurt K, Fadden PT, Wick MR, McDougall EM, Clayman RV. Effect of Piezoelectric Energy on Porcine Kidneys using the EDAP LT.02. *The Journal of Urology*. Vol. 153, 1295-1298, april, 1995. USA.

Archibald, J. 1974. Canine Surgery. Second Archibald Edition. U.S.A. pp. 650-657.

Armenta, E. 2005. Transfección de células HeLa por ondas de choque. Tesis de Maestría en Ciencias (Neurobiología), Instituto de Neurobiología, UNAM, Juriquilla, Querétaro, febrero 2005.

Bao, S, Thrall, BD, Gies, RA and Miller, DL. 1998. In vivo transfection of melanoma cells by lithotripter shock waves. *Cancer Research*. 58 219-221.

Begun, FP, RK, Lawson, CM, Kearns, TM, Tien. Electrohydraulic shock wave induces renal injury. *J Urol*. 1989;142:155.

Bojrab, JM. 1992. Medicina y Cirugía en Especies Pequeñas. Compañía Editorial Continental, S.A. de C.V. México. pp. 225-228.

Carstensen, E. L., Gracewski, S. and Daleki, D.: The search for cavitation in vivo. *Ultrasound Med Biol*, **26**: 1377, 2000

Delius, M, G. Enders, Z. Xuan, H-G, Liebich and W, Brendel. Biological Effects of Shock Waves: Kidney damage by shock waves in dogs-dose dependence. *Ultrasound in Med & Biol*.1988.Vol.14, No.2. pp. 117-122.

Delius, M. Medical applications and bioeffects of extracorporeal shock waves. *Shock Waves*. 1994;4:55.

Delius, M, Hofschneider, P, Lauer, U and Messmer K. Extracorporeal shock waves for gene therapy?. *Lancet*. 354.1377.

Eisenberger, F, K, Miller, J, Rassweiler. Stone Therapy in Urology. Thieme Medical Publishers, Inc. New York. 1991. pp. 55-56.

Evan, A. P., Willis, L. R., McAteer, J. A., Bailey, M. R., Connors, B. A., Shao, Y., Lingeman, J. E., Williams, J. C., Jr., Fineberg, N. S. and Crum, L. A.: Kidney damage and renal functional changes are minimized by waveform control that suppresses cavitation in shock wave lithotripsy. *J Urol*, **168**: 1556, 2002.

Fajardo LL, Hillman BJ, Weber C, Donovan JM, Drach GW. Microvascular changes in rabbit kidneys after extracorporeal shock wave treatment. *Invest Radiol* 1990;25:664-669.

Fuchs AM, Coulson W, Fuchs GJ. Effect of extracorporeally induced high-energy shock waves on the rabbit kidney and ureter; a morphologic and functional study. *J Endourol* 1988;2:341-344.

Gambihler, S, Delius, M and Ellwart, JW. 1994. Permeabilization of the plasma membrane of L1210 mouse leukaemia. *J Membr Biol.* 141, 267-275.

Goddard, EP. 1990. Manual de Prácticas de Histología. Cuadernos de Apoyo a la Docencia (No. 9). Universidad Autónoma de Querétaro. Escuela de Medicina Veterinaria y Zootecnia. pp. 12-23. México.

Gunasekaran S, Donovan JM, Chvapil M, Drach GW. Effects of extracorporeal shock wave lithotripsy on structure and function of rabbit kidney. *J. Urol.*, 141:1250,1989.

Karalezli G, Gogus O, Bedük Y, Kokuuslu C, Sarica K, Kutsal O. Histopathologic effects of extracorporeal shock wave lithotripsy on rabbit kidney. *Urol Res.* Jan; 21(1):67-70, 1993.

Kaplan HM, Timmons EH. *The Rabbit: A Model for the Principles of Mammalian Physiology and Surgery.* Academic Press. United States of America. 1979.

Koga, H, K, Matsuoka, S, Noda, T, Yamashita. Cumulative renal damage in dogs by repeated treatment with extracorporeal shock waves. *Int J Urol* 1996;3:134.

Lauer, U, Bürgelt, E, Squire, Z., Messmer, K, Hofschneider, PH, Gregor, M and Delius, M. 1997. Shock wave permeabilization a new gene transfer method. *Gene therapy* 4 710-715.

Loske, AM. y FE, Prieto. 1995. Shock waves in medicine: Annotated bibliographical data base. México: UNAM. ISBN 968-36-4466-X.

Loske, AM. y FE, Prieto. 1999. Fundamentos Técnicos de Litotripsia Extracorporal. México: Ciencia y Cultura, Latinoamérica, Salvat. ISBN 970-681-001-3.

Loske, AM. 2001. Applications of shock waves in medicine. Vol. 2, cap. 12. En: Academic Press, editado por Gabi Ben-Dor, Tov Elperin, Ozer Igra y Assa Lifshitz, San Diego, NY. ISBN 0-12-086432-2.

Loske, AM. 2001. Dual-phase reflectors for extracorporeal shock wave lithotripsy. *Physica Medica.* Vol. XVII, N.3, July-September 2001.

Loske AM, Prieto FE, Fernández F, Van Cauwelaert J. *Tandem* shock wave cavitation enhancement for extracorporeal lithotripsy. *Phys. Med. Biol.* 47 (2002) 3945-3957. (a).

Loske AM, Prieto FE, Van Cauwelaert J, Fernández F. Piezoelectric *tandem* shock wave generation for extracorporeal shock wave lithotripters. *Physica Medica*-Vol. XVIII, N. 1, January-March 2002. (b).

Loske, A. M., Prieto, F. E., Zavala, M. L., Santana, A D. and Armenta, E.: Repeated application of shock waves as a possible method for food preservation. *Shock Waves*, 9: 49, 1999.

Loske, A. M., Álvarez, U. M., Hernández-Galicia, C., Castaño-Tostado, E. and Prieto, F. E.: Bactericidal effect of underwater shock waves on *Escherichia coli* ATCC 10536 suspensions. *Innov Food Science & Emerg Technol*, 3: 321, 2002

^aMorris JS, Hussmann DA, W Tad Wilson, Preminger GM. Temporal effects of shock wave lithotripsy. *J. Urol.*, 145:881-883, 1991.

^bMorris JS, DA Husmann, W Tad Wilson, J Denstet, PF Fulgham, RV Clayman, GM Preminger. A Comparison of Renal Damage Induced by Varying Modes of Shock Wave Generation. *J. Urol.*, 145 864-867, 1991.

Norma Oficial Mexicana NOM-087-ECOL-1995.

Prieto, FE, AM, Loske, FL, Yarger. An underwater shock wave research device. *Rev Sci Instrum.* 1991; 62:1849.

Prieto, FE, AM, Loske, Bifocal reflector for electrohydraulic lithotripters. *J Endourol.* 1999.13(2): 65.

Robinson GK. Practical strategies for experimenting. John Wiley and Sons, LTD.2000. Wiley series in probability and statistics. ISBN 0-471-49055-5.

Ryan PC, Jones BJ, Kay EW,, et al: Acute and chronic bioeffects of single and multiple doses of piezoelectric shockwaves (EDAP LT.01). *J Urol* 1991; 145:881-883.

Rubin E, Farber JL. Patología. Fundamentos. Editorial Médica Panamericana, S.A. de C.V. México. 1992, pág. 158.

Slatter, DH. Texto de Cirugía de los Pequeños Animales. Volumen II. Salvat Editores. pp. 1843-1853.

Sokolov, D. L., Bailey, M. R. and Crum, L. A.: Use of two pulses to localize and intensify cavitation in lithotripsy. *J Acoust Soc Am*, 110: 1685, 2001.

Van Arsdalen KN, Kurzweil S, Smith J, Levin RM. Effect of lithotripsy on immature rabbit bone and kidney development. *J. Urol.*, 146:213-216,1991.

Vergunst H, OT Terpstra, K Brakel, HGT Nijs, JS Lámeris, FJW ten Kate, FH Schröder. Biliary Extracorporeal Shock Wave Lithotripsy: Short-Term and Long-Term Observations in an Animal Model. *Hepato-Gastroenterol.* 40(1993) 388-395.

Zendejas MH. 2001. Tesis: Evaluación histopatológica del daño renal inducido por el uso de un reflector bifocal para litotripsia. Universidad Autónoma de Querétaro, Facultad de Ciencias Naturales, Licenciatura en Medicina Veterinaria y Zootecnia. 75 pp. México.

Zhong, P., Cioanta, I., Cocks, F. H. and Preminger, G. M.: Inertial cavitation and associated acoustic emission produced during electrohydraulic shock wave lithotripsy. *J Acoust Soc Am*, 101: 2940, 1997.

Zhou, Y., Cocks, F. H., Preminger, G.M. and Zhong, P.: Innovations in shock wave lithotripsy technology: updates in experimental studies. *J Urol*, 172: 1892, 2004.