

**UNIVERSIDAD DE PANAMÁ  
FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES, EXACTAS Y TECNOLOGÍA  
DEPARTAMENTO DE FISIOLGIA Y COMPORTAMIENTO ANIMAL**

**PARAMETROS FISIOLÓGICOS Y BIOQUÍMICOS REPORTADOS EN  
RATONES C57BI/6 AL SER SOMETIDOS A CONDICIONES DE CALOR Y  
DESHIDRATACIÓN RECURRENTE**

**AUTOR:**

**HAROLD DENILSON SMITH DACOSTA**

**ASESORES**

**GLORIA MONTENEGRO**

**KAREN YÁNGÜEZ**

**ESTELA GUERRERO**

**Trabajo de Graduación para optar por el Grado**

**Académico de Licenciatura en Biología**

**2024**



---

## TRIBUNAL EXAMINADOR

---

### PARÁMETROS FISIOLÓGICOS Y BIOQUÍMICOS REPORTADOS EN RATONES C57BI/6 AL SER SOMETIDOS A CONDICIONES DE CALOR Y DESHIDRATACIÓN RECURRENTE

Por:

**Harold Smith**

**3-743-1754**

---

Trabajo de Graduación presentado a consideración de la Escuela de Biología como  
requisito parcial para optar por el título de Licenciatura en Biología con Orientación en  
Fisiología y Comportamiento Animal

**Mgtr. Gloria de Trujillo**

---

**Mgtr. Karen Yángüez**

---

**Dra. Estela Guerrero**

---

## **DEDICATORIA**

Me place dedicar este triunfo primeramente a Dios. sustento, refugio y baluarte de mi vida. También quiero dedicar este triunfo a mi madre y a mi hermano (Iris Dacosta y Leonardo Smith) que con esfuerzo incansable nunca dejaron de apoyarme y darme ánimo para culminar exitosamente esta investigación. Finalmente, dedico este triunfo a cada uno de mis familiares y amigos que creyeron en mí y en esta historia. La historia de convertirme en un profesional de las ciencias biológicas.

## AGRADECIMIENTOS

Agradezco a Dios primeramente porque sus misericordias son nuevas cada mañana y porque su poderosa mano me permitió culminar con éxito esta travesía universitaria.

Agradezco a mi familia por su apoyo continuo y por nunca dejar de creer en mis posibilidades.

Quiero agradecer de manera especial a la profesora Karen Yangüez y a Maricelis Díaz quienes fueron pieza clave en el aprendizaje, de las destrezas y las competencias necesarias para desarrollar las tareas propuestas en el laboratorio. De igual forma quiero agradecer públicamente a la Dra. Estela y a todo el equipo de CIPFAR por abrir sus puertas y permitirme cumplir este sueño. Destacando el excelente ambiente laboral, la hermandad y la vocación que tenían cada uno de los investigadores para resolver nuestras dudas durante las experiencias experimentales. Y también quiero agradecer al SENACYT por su ayuda en el financiamiento de este proyecto.

Quiero realizar mención honorífica para mi amiga, colega y compañera de milicia Rebecca Escudero (compañera de tesis). De la cual aprendí muchas cosas como el trabajo en equipo, la lealtad, y el apoyo desinteresado. Te deseo el mayor de los éxitos.

Doy gracias igualmente a mis pastores Curtis y Farahdiva de Correa y a mis hermanos de la iglesia Dios de Pacto del Irving Saladino. Los cuales siempre mostraron su amor, comprensión y empatía en medio de cada etapa de este gran logro, mostrando su atención y apoyo innegable.

## ÍNDICE GENERAL

DEDICATORIAS .....	i
AGRADECIMIENTOS.....	ii
ÍNDICE GENERAL.....	iii
ÍNDICE DE TABLAS .....	vi
ÍNDICE DE FIGURAS .....	vii
RESUMEN .....	ix
SUMMARY.....	x
INTRODUCCIÓN.....	xi
<b>CAPITULO I: MARCO TEÓRICO.....</b>	<b>1</b>
1. Concepto.....	2
1.1. Prevalencia y epidemiología.....	2
2. Etiología de la enfermedad.....	6
2.1. Hipótesis causales de la ERCnT.....	6
2.2. Estadios de la ERC.....	8
3. Prevenciones y recomendaciones.....	9
4. Efecto del estrés térmico y la deshidratación en la función renal.....	10
Hipótesis y objetivos de la investigación.....	12

<b>CAPITULO II: METODOLOGÍA</b> .....	13
1. Sitio de trabajo.....	14
2. Modelo del estudio y condiciones del laboratorio.....	14
2.1. Grupos de experimentación.....	14
3. Parámetros del sacrificio.....	17
4. Determinación de parámetros fisiológicos.....	17
4.1. Pérdida y ganancia de peso.....	17
4.2. Consumo de agua y comida.....	17
5. Determinación de parámetros bioquímicos.....	18
5.1. Determinación en orina.....	18
5.1.1. Ingesta previa de agua.....	18
5.1.2. Extracción de orina y cuantificación de muestra.....	18
5.2. Determinación de parámetros sanguíneos y el porcentaje de hematocrito.....	18
5.2.1. Sangre completa.....	18
5.2.2. Suero.....	19
6. Índice de órganos.....	19
<b>CAPITULO III: PRESENTACIÓN DE LOS RESULTADOS</b> .....	20
1. Peso corporal e ingesta nocturna de agua y alimento .....	21
2. Determinación de los parámetros bioquímicos .....	25
2.1. Química urinaria .....	25
2.2. Química sanguínea .....	27
3. Determinación del porcentaje de hematocritos .....	29

4. Relación peso del órgano /peso corporal (PO/PC) .....	30
<b>CAPITULO IV: DISCUSIÓN .....</b>	<b>32</b>
1. Peso corporal e ingesta nocturna de agua y alimento .....	33
1.1. Peso corporal .....	33
1.2. Consumo de agua y alimento .....	34
2. Determinación de los parámetros bioquímicos .....	35
2.1. Química urinaria .....	35
2.2. Química sanguínea .....	37
3. Determinación del hematocrito .....	39
4. Relación PO/PC .....	39
<b>CONCLUSIONES .....</b>	<b>41</b>
<b>RECOMENDACIONES .....</b>	<b>43</b>
<b>REFERENCIAS BIBILOGRÁFICAS .....</b>	<b>45</b>

## ÍNDICE DE TABLAS

<b>Tabla N° 1</b> .....	4
Muertes por enfermedad renal crónica, cifras, tasa de mortalidad ajustada en función de la edad y la variación porcentual anual media (VPAM) en la población de todas las edades, por periodo, en los países centroamericanos, Cuba y los Estados Unidos.	
<b>Tabla N° 2</b> .....	5
Prevalencia de pacientes en hemodiálisis (HD) y diálisis peritoneal en los ocho países de la ACECANH/región 4 SLANH al primer semestre de 2017	
<b>Tabla N° 3</b> .....	7
Factores causales hipotetizados en el desarrollo de la ERC	
<b>Tabla N° 4</b> .....	30
Relación (PO/PC) de ratones C57Bl/6 al finalizar las 5 semanas del tratamiento	

## ÍNDICE DE FIGURAS

<b>Figura N° 1</b> .....	8
Estadios de la Enfermedad Renal Crónica	
<b>Figura N° 2</b> .....	16
Diseño experimental para inducir la ERCnT en ratones	
<b>Figura N° 3</b> .....	22
Cambios en el peso corporal en ratones C57Bl/6 durante las 5 semanas de tratamiento	
<b>Figura N° 4</b> .....	23
Cambios en el peso corporal en ratones C57Bl/6 durante las 5 semanas de tratamiento	
<b>Figura N° 5</b> .....	24
Consumo de agua y de alimento en ratones C57Bl/6 en la primera y cuarta semana de tratamiento	
<b>Figura N° 6</b> .....	26
Parámetros urinarios registrados en los distintos grupos de experimentación luego de ser sometidos a condiciones de calor y deshidratación.	
<b>Figura N° 7</b> .....	28
Parámetros sanguíneos obtenidos en los distintos grupos de experimentación luego de ser sometidos a condiciones de calor y deshidratación por 5 semanas.	

**Figura N° 8** .....29

Porcentaje de hematocrito de ratones C57bl/6 al ser sometidos a condiciones de calor y deshidratación por 5semanas.

**Figura N° 9** .....31

Relación (PO/PC) de ratones C57Bl/6al finalizar las 5 semanas del tratamiento

## RESUMEN

La Enfermedad Renal Crónica no tradicional (ERCnT) es una nueva etiología de la Enfermedad Renal Crónica (ERC). Esta se concentra mayormente en las zonas costeras del litoral pacífico desplazándose desde el sur de México, hasta las provincias centrales del istmo panameño con la presencia de algunos casos aislados en las regiones de Europa y Asia (específicamente en las regiones de Sri Lanka). Esta nueva etiología se caracteriza por la inexistencia de causas aparentes. La misma se observa mayormente en individuos masculinos dedicados al corte y la siembra de la caña de azúcar, al pacífico de la región mesoamericana. Debido a esta problemática, estudios sugieren que la ERCnT es de naturaleza multifactorial. De manera que el calor y la deshidratación recurrente son las hipótesis mayormente aceptadas dentro del campo científico. Por lo tanto, el siguiente proyecto consistió en el desarrollo de un modelo murino experimental útil para el estudio de la ERCnT y el cual abordó los cambios fisiológicos ocurridos en ratones C57Bl/6 al ser sometidos a condiciones de calor y deshidratación recurrente (Wesseling & Weiss, 2017). Finalmente se concluyó que estas condiciones provocaron una pérdida significativa del peso corporal (GTH y GTdH), reportándose un ligero incremento en los niveles de proteinuria (GTH y GTdH) y una evidente hematuria en los ratones GTdH durante las jornadas de tratamiento. Tales eventos sugieren, que estas condiciones (calor y deshidratación recurrente) podrían alterar el equilibrio hídrico, osmótico y renal de los ratones.

## SUMMARY

Non-traditional Chronic Kidney Disease (CKDnT) is a new etiology of Chronic Kidney Disease (CKD). This is mainly concentrated in the coastal areas of the Pacific coast, moving from the south of Mexico to the central provinces of the Panamanian isthmus with the presence of some isolated cases in the regions of Europe and Asia (specifically in the regions of Sri Lanka). This new etiology is characterized by the lack of apparent causes. It is observed mainly in male individuals dedicated to cutting and planting sugar cane, in the Pacific of the Mesoamerican region. Due to this problem, studies suggest that CKDnT is multifactorial in nature. So heat and recurrent dehydration are the most accepted hypotheses within the scientific field. Therefore, the next project consisted of the development of an experimental murine model useful for the study of CKDnT and which addressed the physiological changes that occurred in C57Bl/6 mice when subjected to conditions of heat and recurrent dehydration (Wesseling & Weiss, 2017). Finally, it was concluded that these conditions caused a significant loss of body weight (GTH and GTdH), reporting a slight increase in the levels of proteinuria (GTH and GTdH) and evident hematuria in the GTdH mice during the treatment days. Such events suggest that these conditions (heat and recurrent dehydration) could alter the water, osmotic and renal balance of the mice.

## INTRODUCCIÓN

La enfermedad renal crónica (ERC) es un problema de salud pública que afecta a más del 10% de la población. El aumento de los casos y la alta tasa de mortalidad ha ubicado a esta enfermedad como referente de las enfermedades no transmisibles (ENT) con mayor impacto. (Gorostidi et al., 2018)

Recientemente en la región mesoamericana, estudios revelaron la condición de un grupo de trabajadores de la caña de azúcar, que a pesar de no mostrar antecedentes de diabetes e hipertensión (factores de riesgo tradicionales de la ERC) presentaban daños en sus estructuras renales. Bajo esta misma premisa, la alta prevalencia de esta enfermedad en las zonas del pacífico mesoamericano y el desconocimiento de sus factores de riesgos nombran a esta nueva etiología como la Enfermedad Renal Crónica no Tradicional (ERCnT). La ERCnT se concentra mayormente en las zonas costeras del litoral pacífico desplazándose desde el sur de México, hasta las provincias centrales del istmo panameño. Con la presencia de algunos casos aislados en las regiones de Europa y Asia, específicamente en las regiones de Sri Lanka y La India (García-García & Jha, 2015) (Chavarría & Méndez, 2016).

Como consecuencia de estos hallazgos, estudios apuntan a que en la provincia de Coclé se concentra uno de los mayores focos de prevalencia de la ERC del istmo panameño. A raíz de esta problemática Rodríguez et al., 2014, sugiere que los altos índices de prevalencia en esta región podrían estar vinculados con las ocupaciones laborales de sus pobladores. Como lo son el cultivo y la siembra de caña de azúcar (Rodríguez et al., 2014). Debido al desconocimiento de esta nueva etiología, diversos autores han propuesto innumerables hipótesis como posibles causales del desarrollo de esta enfermedad. Siendo las altas temperaturas, la humedad, la baja ingesta de agua y el trabajo extenuante, las hipótesis

mayormente aceptadas dentro del campo científico (Cerón, 2020). Como resultado de esto, estudios sugieren que prolongados periodos de calor, deshidratación y trabajo extenuante juegan un papel importante para la activación de la enzima poliol fructoquinasa. Enzima encargada de la conversión de glucosa a sorbitol y fructosa. La que al ser metabolizada en grandes cantidades podría ser nociva para los riñones (Correa-Rotter et al., 2014)

### **Justificación**

A raíz del impacto que representa la ERCnT sobre la salud pública y la escasas de evidencias científicas que determinen sus causas, el siguiente proyecto consiste en el desarrollo de un modelo murino experimental útil para el estudio de la ERCnT. Abordando los cambios fisiológicos ocurridos en ratones C57Bl/6 al ser sometidos a condiciones de calor y deshidratación recurrente (Wesseling & Weiss, 2017), a fin de estudiar estas condiciones como posibles factores de riesgo para esta nueva etiología.

CAPITULO I

MARCO TEÓRICO

## **1. Concepto**

Con el propósito de comprender la ERCnT, es de vital importancia definir su etiología tradicional. La ERC se define como la disminución progresiva, permanente e irreversible de la tasa de filtración glomerular (TFG) a lo largo del tiempo. Que inhibe el desempeño óptimo de las funciones renales de excreción, depuración, regulación y equilibrio metabólico (López, 2008 & Rechene, 2018). Factores como la hipertensión, la diabetes y la obesidad son factores de riesgo tradicionales para el desarrollo de esta patología (Sellarés et al., 2022). Por esta razón, la ERCnT es el resultado de una nueva etiología propia de la ERC sin los factores de riesgos completamente establecidos.

La ERCnT se presenta mayormente en individuos masculinos que se dedican al trabajo forzoso en las zonas del pacifico mesoamericano, donde las temperaturas y los estadios de deshidratación recurrentes son extremadamente comunes (Roncal-Jimenez et al., 2016). Condiciones que al ser sostenidas en el tiempo, podrían representar daños irreversibles en las estructuras renales. Provocando el descenso de la TFG y la presencia de baja o nula albuminuria. (Wijkström et al., 2013).

### **1.1.Prevalencia y epidemiología**

En base a diversos registros epidemiológicos, la ERC es una nefropatía que afecta mayormente a las regiones de América latina, Oceanía y África subsahariana, contrario a las regiones de Asia meridional, Australasia Europa central y oriental en donde la tasa de prevalencia es más baja (Bikbov et al., 2020). Al observar este panorama, solo en el continente europeo 1 de cada 7 individuos adultos padecieron de la ERC en España (Gorostidi et al., 2018). De igual manera, la cohorte francesa (REIN) en el 2012 registró un

total de 73.495 pacientes con tratamiento sustitutivo renal y destacaron la presencia de esta enfermedad en aproximadamente 3 millones de sus pobladores (Boffa & Cartery, 2015). A pesar de que la prevalencia de esta enfermedad es más baja en las regiones europeas con respecto al nuevo continente, la misma obtuvo un aumento del 5% los últimos años. Concerniente a esta problemática, pero al norte del continente americano, los Estados Unidos estimó que 1 de cada 7 individuos adultos padecen de ERC (Tabla N° 1) (Centros para el Control y la Prevención de Enfermedades, 2023). Mientras que el estado mexicano documentó un total de 377 casos por millón de habitantes (Ávila-Saldivar, 2013). Finalmente, el istmo panameño reportó un total 220 casos por cada 100,000 habitantes solo en las regiones del Coco y Coclé (Tabla N° 2) (Rodríguez et al., 2014).

La ERCnT por su parte, ha mostrado asentamientos firmes en las regiones mesoamericanas. Solo en las regiones agrícolas del Salvador y Nicaragua la tasa de mortalidad es 4 veces mayor a otros espacios del continente. Mientras que el istmo panameño, es el responsable del 12% de las muertes por ERCnT (Daniel Marín-Trigueiros et al., 2020).

**Tabla N° 1.** Muertes por enfermedad renal crónica, cifras, tasas de mortalidad ajustada en función de la edad y variación porcentual anual media (VPAM) en la población de todas las edades, por período, en los países centroamericanos, Cuba y los Estados Unidos.

País	Población 2013	Período	Primer año disponible			Último año disponible			Datos acumulados		
			Tasa de mortalidad ajustada por edad (x100.000)	Muertes totales	Muertes <60 años (% muertes totales)	Tasa de mortalidad ajustada por edad (x100.000)	Muertes totales	Muertes <60 años (% muertes totales)	VPAM (IC 95%)	Muertes totales	Muertes <60 años (% muertes totales)
<b>Belice</b>	344.193	1997-2013	9,27	13	5 (38%)	11,51	21	11 (52%)	10,4 [1,4; 20,3]	365	148 (41%)
<b>Costa Rica</b>	4.706.433	1997-2013	6,99	180	53 (29%)	6,64	333	86 (26%)	-2,2 [-4,8; 0,4]	4.060	1.193 (29%)
<b>El Salvador</b>	6.089.644	1997-2012	18,69	684	283 (41%)	47,36	2.582	905 (35%)	17,6 [15,5; 19,6]	22.537	8.482 (38%)
<b>Guatemala</b>	15.690.793	2005-2013	10,68	774	302 (39%)	14,7	1.442	565 (39%)	12,9 [7,6; 18,5]	9.970	3.909 (39%)
<b>Honduras</b>	7.849.059	2008-2013	8,77	397	227 (57%)	8,59	477	280 (59%)	-1,1 [-13,6; 13,1]	2.836	1.517 (53%)
<b>Nicaragua</b>	5.945.646	1997-2013	23,85	536	246 (46%)	36,67	1.552	796 (51%)	9,7 [7,0; 12,5]	16.566	8.574 (52%)
<b>Panamá</b>	3.805.683	1998-2013	8,04	167	60 (36%)	9,52	344	100 (29%)	7,3 [2,2; 12,6]	4.722	1.284 (27%)
<b>Subtotal</b>				2.751	1.176 (43%)		6.751	2.743 (41%)		61.056	25.107 (41%)
<b>Cuba</b>	11.362.505	2001-2013	2,71	358	103 (29%)	2,72	494	124 (25%)	-0,7 [-3,6; 2,3]	5.301	1.401 (26%)
<b>Estados Unidos</b>	317.135.919	1999-2012	3,3	14.130	2.072 (15%)	4,58	27.417	3.103 (11%)	6,0 [4,9; 7,1]	294.332	40.950 (14%)

**Fuente:** (Organización Mundial de la Salud, 2017)

**Tabla N° 2.** Prevalencia de pacientes en hemodiálisis (HD) y diálisis peritoneal (DP) l en los ochos países de la ACECANH/región 4 SLANH al primer semestre de 2017

Pais	Población al 2017 <sup>a</sup>	Pacientes en TRR dialítica (n)	Prevalencia en TRR dialítica (pmp)	Pacientes en HD (n)	Prevalencia en HD (pmp)	Pacientes en DP (n)	Prevalencia en DP (pmp)
República Dominicana	10,169,172	3,655	359.4	2,783	273.7	872	85.7
Cuba	11,390,183	3,145	276.1	3,075	270.0	70	6.1
Guatemala	16,924,190	6,777	400.4	3,101	183.2	3,676	217.2
Honduras	8,866,351	3,060	345.1	2,882	325.0	178	20.1
El Salvador	6,581,940	4,457	677.2	1,955	297.0	2,502	380.1
Nicaragua	6,305,956	3,232	512.5	2,286	362.5	946	150
Costa Rica	4,947,490	687	138.9	177	35.8	510	103.1
<b>Panamá</b>	4,098,135	2,157	526.3	1,761	429.7	396	96.6
Totales regionales	69,283,417	27,170	392.2	18,020	260.1	9,150	132.1

Fuente: (García-Trabanino et al., 2018)

## **2. Etiología de la enfermedad**

### **2.1 Hipótesis causales de la ERCnT**

Como resultado de la poca evidencia científica que existe acerca de los agentes causales de esta enfermedad, diversos autores sugieren que la ERCnT es una etiología de naturaleza multifactorial. Estudios sugieren que la acción conjunta de diversas variables químicas, físicas y medioambientales podrían ser las responsables del daño progresivo de las estructuras renales (Wesseling & Weiss, 2017). A raíz de esta problemática se han propuesto diversas hipótesis (Tabla N° 3):

#### **Variables químicas**

El uso sostenido de herbicidas y plaguicidas; la contaminación con metales pesados como el cadmio y el plomo; el consumo recurrente de alcohol y estupefacientes y la inclusión de una mala alimentación empeoran la condición del trabajador (Johnson & Sánchez-Lozada, 2013).

#### **Variables fisiológicas**

Los eventos repetidos de deshidratación, las altas temperaturas, la humedad, el trabajo extenuante, provocan una disminución del volumen sanguíneo circundante provocando el sobre esfuerzo del corazón, los vasos sanguíneos, comprometiendo la perfusión renal y el correcto funcionamiento de otros órganos. Desencadenando una cascada de factores de regulación que al ser sostenidos en el tiempo provocan cambios irreversibles en el organismo (Correa-Rotter & García-Trabanino, 2019)(Chavarría & Méndez, 2016).

**Tabla N° 3.** Factores causales hipotetizados en el desarrollo de la ERCnT

Agoquímicos	Paraquat
	Glifosato
	2,4-D
	Cipermetrina
	Clorpirofos
Metales peados y metaloides	Arsénico
	Cadmio
	Plomo
	Sílica
Estrés térmico y deshidratación	Golpe de calor recurrente
	Deshidratación y activación de fructoquinasa tubular
	Deshidratación y estimulación de vasopresina
	Cristaluria y uricosuria cíclica
	Rabdomiolisis subclínica
Causas metabólicas	Hiperuricemia
	Hipokalemia
Agentes infecciosos	Leptospira
	Hanta virus
Toxinas ambientales	Ácido aristolóquico
	Ocratoxinas
Medicamentos	Analgésicos y antiinflamatorios no esteroides
	Aminoglicósidos
Genética / herencia	Enfermedades hereditarias
	Predisposiciones genéticas

**Fuente:** (García & Correa, 2020)

## 2.2 Estadios ERC

Con el propósito de comprender el funcionamiento de la ERCnT, como nueva etiología de la ERC, es vital destacar los diversos estadios por los cuales atraviesa un paciente diagnosticado con ERC. Para su comprensión, ésta ha sido clasificada en 5 estadios de gravedad basados en la disminución de la TFG y la aparición persistente de albuminuria (Figura N° 1).

Guía para la Frecuencia de Monitorización (número de veces al año) de las categorías de del FG y la Albuminuria				Categorías de albuminuria Persistente		
				Descripción y Rango		
				A1	A2	A3
				Incremento de normal a ligero	Incremento moderado	Incremento severo
				<30 mg/g <3 mg/mmol	30-300 mg/g 3-30 mg/mmol	>300 mg/g >30 mg/mmol
Categorías de FG (ml/min/1,73 m <sup>2</sup> ) Descripción y Rango	G1	Normal o alto	≥90	1 si ERC	1	2
	G2	Descenso ligero	60-89	1 si ERC	1	2
	G3a	Descenso ligero-moderado	45-59	1	2	3
	G3b	Descenso moderado-severo	30-44	2	3	3
	G4	Descenso Severo	15-29	3	3	4+
	G5	Fallo Renal	<15	4+	4+	4+

**Figura N° 1. Estadios de la Enfermedad Renal Crónica.** Los colores presentados en esta ilustración demuestran la gravedad del paciente. Verde, buena salud; Amarillo, salud un poco deteriorada; Naranja, salud deteriorada; Rojo, salud muy deteriorada. Los números que los acompañan representan la cantidad de veces que los pacientes recomiendan ser observados anualmente.

**Fuente:** (Levey et al., 2011)

### **3. Prevenciones y Recomendaciones**

Los altos costos de las terapias sustitutivas y la escasez de herramientas diagnósticas que faciliten la detección precoz de la ERCnT, convierten a esta ENT en un mal costoso para el estado y los sistemas de salud (Ávila-Saldivar, 2013). A razón de esto, la promoción de jornadas de cuidado y prevención en las poblaciones afectadas por la ERCnT, ha destacado por ser una de las mejores estrategias para contrarrestar a esta nueva etiología.

#### **Prevenciones**

- Evitar muchas horas de trabajo extenuante y la exposición a altas temperaturas (Correa-Rotter & García-Trabanino, 2019)
- Promover la continua ingesta de agua en medio de las jornadas laborales (Correa-Rotter & García-Trabanino, 2019).
- Incrementar los periodos de sombra y descanso. (Correa-Rotter et al., 2014)
- Evitar la ingesta de antiinflamatorios no esteroides y la utilización de agroquímicos nocivos para la salud.(Correa-Rotter & García-Trabanino, 2019)

#### **Recomendaciones**

- Se recomienda la inclusión del trabajo extenuante a las primeras horas de la mañana con el fin de minimizar las horas de calor a la cual es expuesta la clase trabajadora (Correa-Rotter et al., 2014)
- Con el fin de mejorar las condiciones del trabajador de la caña, puede ser útil el saneamiento constante de sus alrededores y la creación de dispensadores de agua acompañados de una jornada laboral con horas de descanso bastante marcadas (Correa-Rotter & García-Trabanino, 2019)

- Por otro lado, destacar la responsabilidad de la empresa contratista de brindar uniformes adecuados, sombrillas y de proveer materiales de protección que faciliten el trabajo de los empleados (Correa-Rotter & García-Trabanino, 2019)

#### **4 Efecto del Estrés Térmico y la Deshidratación en la Función Renal**

Desde la aparición de la ERCnT, la deshidratación ha sido catalogada como una de las posibles causales del fallo renal agudo (Daniel Marín-Trigueiros et al., 2020). A pesar del peligro que representa tal aseveración, tanto la exposición prolongada al estrés térmico como la baja ingesta de agua son condiciones típicas de los trabajadores de la caña de azúcar. Como resultado de esta problemática, diversos estudios enfocaron sus esfuerzos en registrar el impacto que representa las arduas jornadas laborales en la salud de los campesinos. Bajo este mismo contexto, pero con relación al desgaste físico, estudios registraron un aumento en los niveles de creatinina y osmolaridad sérica con una ligera presencia de muerte celular en la orina (Rabdiomiolisis) (Correa-Rotter & García-Trabanino, 2019). Bajo este mismo contexto, pero concerniente a los eventos prolongados de deshidratación, diversos estudios sugieren que la poca hidratación pudiera ser la responsable de diversos daños en las estructuras tubulares acompañadas del encogimiento de las estructuras glomerulares y la presencia de una disfunción en la TFG, a raíz del bajo volumen de sangre circundante. Estas condiciones anteriormente descritas juegan un papel importante en la activación de la enzima poliol fructoquinasa, cuya función fue descrita en los podios introductorios (Correa-Rotter et al., 2014)(Correa-Rotter & García-Trabanino, 2019). A raíz del hallazgo de esta nueva enzima condujo a Roncal y colaboradores a proponer diversos modelos experimentales los cuales evidenciaron cambios en las estructuras renales de los sujetos de experimentación (Roncal-Jimenez et al., 2016; Roncal Jimenez et al., 2014). Por esto cabe mencionar que, en

rasgos generales la deshidratación provoca una disminución de la volemia en el torrente sanguíneo provocando la activación sostenida de sistemas relacionados con la vasoconstricción y la activación de la vía del poliol producto de la fructosa circundante, la evidente concentración sérica y finalmente la liberación sostenida de la hormona vasopresina, hormona responsable del aumento de la presión hidrostática glomerular, lo cual aumenta el riesgo de progresión de la enfermedad. Cada una de estas condiciones antes descritas favorecen el daño tubular, propician el estrés oxidativo, la producción de ácido úrico y la presencia de factores inmunológicos relacionados con la inflamación. (Daniel Marín-Trigueiros et al., 2020).

## **Hipótesis y Objetivos de la Investigación**

### **Hipótesis nula**

Los eventos prolongados de calor y deshidratación, no afectan las funciones de filtración, reabsorción y de excreción de los riñones. Y además, no disminuyen el peso corporal de los ratones durante las jornadas de tratamiento.

### **Hipótesis alterna**

Los eventos prolongados de calor y deshidratación, afectan las funciones de filtración, reabsorción y excreción de los riñones. Y además, disminuyen el peso corporal de los ratones durante las jornadas de tratamiento.

### **Objetivo General**

Evaluar los parámetros fisiológicos y anatómicos en ratones C57Bl/6 sometidos a condiciones de calor y deshidratación recurrente mediante técnicas experimentales.

### **Objetivos Específicos**

Cuantificar el impacto del calor y la deshidratación sobre la fisiología normal de los ratones.

Cuantificar el impacto del consumo de agua en la fisiología de los ratones.

## CAPITULO II

### METODOLOGÍA

## 1. Sitio de trabajo

El desarrollo de este proyecto fue realizado en las instalaciones del Centro de Servicios e Investigaciones Farmacológicas (CIPFAR) ubicado en la Facultad de Medicina de la Universidad de Panamá

## 2. Modelo del estudio y condiciones del laboratorio:

En el siguiente estudio se utilizó un total de 32 individuos machos de la cepa C57Bl/6, con aproximadamente 7 semanas de nacidos y cuyos pesos oscilaron entre los 22 y 30 g. Los mismos contaron con una exposición diaria a 10 h de luz/ 14 h de oscuridad, a una temperatura de 22°C y con la presencia de agua y alimento *ad libitum*. Finalmente, los ratones utilizados en este experimento, fueron proporcionados por el beaterio del Instituto de Investigaciones Científicas y Servicios de Alta Tecnología de Panamá (INDICASAT-AIP)

### 2.1 Grupos de experimentación

Para este estudio se utilizó el protocolo ya descrito por Carlos Jiménez *et al*, con algunas modificaciones efectuadas (Roncal-Jiménez et al., 2013).

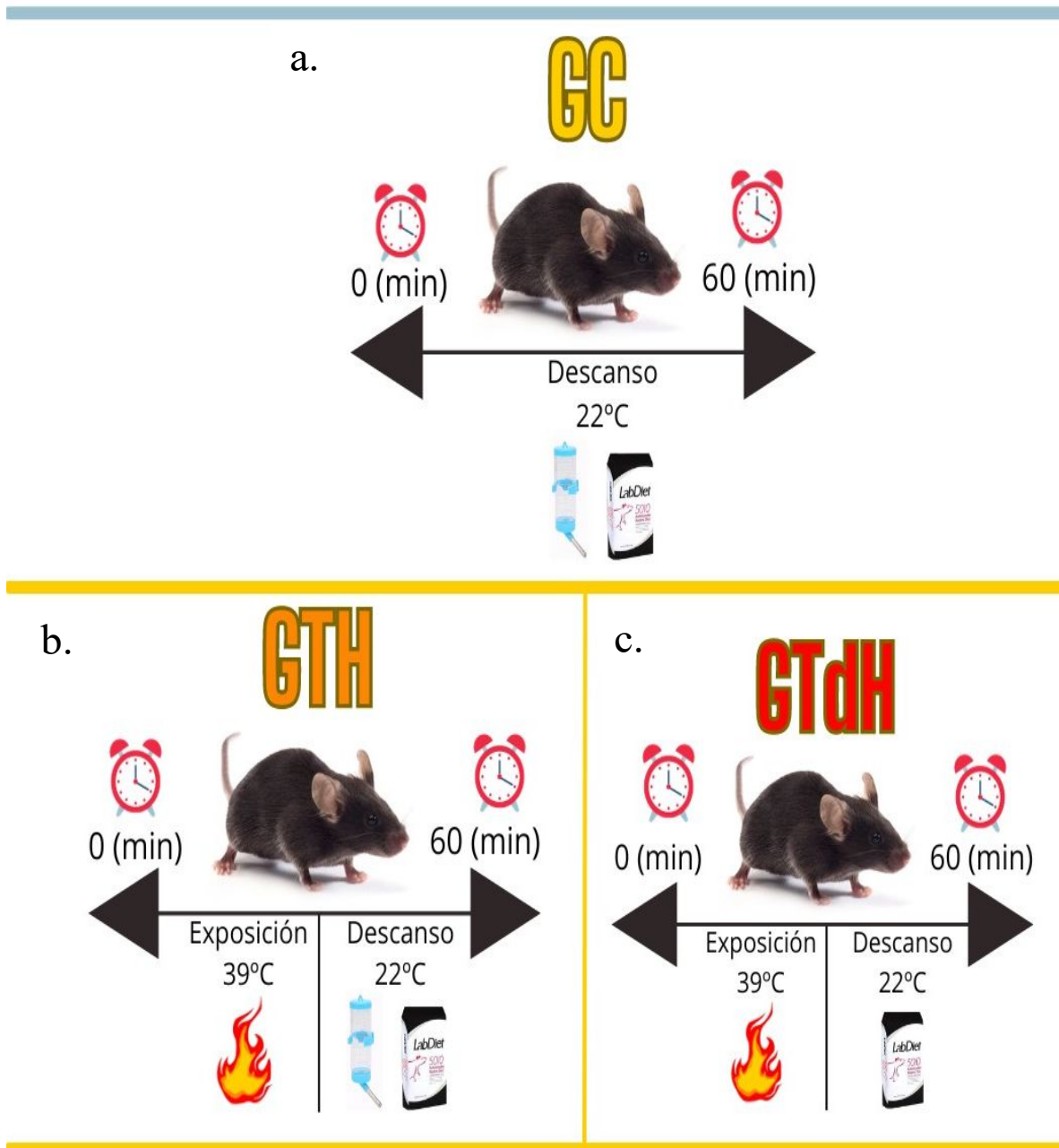
Los ratones fueron divididos en 3 grupos de experimentación, como se explica a continuación:

**Grupo control:** En este grupo los animales, no fueron intervenidos, se mantuvieron en condiciones normales de temperatura (22 °C) y contaron con acceso libre a las fuentes de agua y comida diaria durante 5 semanas (Figura N° 2a).

**Grupo hidratado:** Los ratones fueron expuestos a 39°C durante 30 min cada hora, repitiendo este ciclo por 8 horas, 5 días a la semana durante un periodo de 5 semanas. De manera que se realizaron alternando los periodos en 30 minutos de exposición al calor y 30 minutos de descanso en el que los ratones tuvieron acceso libre a las fuentes de agua y comida (Figura N° 2b).

**Grupo deshidratado:** Los ratones de este grupo fueron expuestos a una temperatura de 39°C durante 30 min cada hora repitiendo este ciclo por 8 horas, 5 días a la semana durante un periodo de 5 semanas. Alternando en periodos de 30 minutos de exposición al calor y 30 minutos de descanso en sus jaulas respectivas. A diferencia de los demás estos contaron con un acceso indefinido a la ingesta de comida en sus periodos de descanso, sin la posibilidad de obtener agua hasta cumplidas las 6:00pm. Todo esto con el fin de obtener entre 11 y 12h de deshidratación diaria durante los días de exposición (Figura N° 2c).

Previamente, los ratones fueron aclimatados (2 semanas) a través de la exposición progresiva (aumento progresivo en las horas de exposición, hasta alcanzar las 8 horas que representan el tratamiento real) de los mismos a condiciones de calor y deshidratación.



**Figura N° 2. Diseño experimental para inducir la ERCnT en ratones.** Los ratones fueron intervenidos por 8 horas diarias, 5 días a la semana por 5 semanas. Con 30 minutos de exposición al calor y 30 minutos de descanso por cada hora transcurrida. a. Grupo control (GC); b. Grupo hidratado (GTH); c. Grupo deshidratado (GTdH).

### **3. Parámetros del sacrificio**

Finalizadas las 5 semanas de tratamiento, se procedió con el sacrificio indoloro de los animales de estudio. El pentobarbital sódico, a una dosis de 50mg/kg, fue utilizado como fármaco anestésico. El mismo fue diluido en solución salina al 0.9% y la jeringa fue aforada hasta alcanzar los 0.5 ml. La inyección se realizó en un ángulo de 45° a través de la vía peritoneal. finalmente se realizó una laparotomía abdominal en la cual se extrajeron las muestras sanguíneas, urinarias y el peso de los órganos, para su posterior análisis (Gimeno et al., 1990) .

### **4. Determinación de parámetros fisiológicos**

#### **4.1 Pérdida y ganancia de peso**

El peso basal de los ratones fue estimado con la llegada de estos al laboratorio. Iniciadas las 5 semanas de experimentación estos roedores fueron pesados una vez por semana, registrando su peso inicial y su peso al culminar la jornada del tratamiento.

#### **4.2 Consumo de agua y comida**

Al finalizar las semanas 1 y 4 del tratamiento habitual, se les proporciono a los ratones 5g de comida y 100ml de agua. Al día siguiente se procedió a pesar la comida restante y se midió el volumen de agua sobrante, con el fin de registrar el consumo nocturno de agua y comida en los distintos grupos de experimentación.

## **5. Determinación de parámetros bioquímicos**

Las determinaciones de los parámetros bioquímicos se realizaron a partir de las muestras de sangre y orina extraídas al finalizar la quinta semana del tratamiento.

### **5.1 Determinación en orina**

#### **5.1.1 Ingesta previa de agua**

Para la determinación de los parámetros urinarios se le administraron al ratón 0.3 ml de agua cada media hora con la ayuda de una cánula nasogástrica, en este periodo se ejecutaron dos administraciones media hora antes de finalizado el tratamiento.

#### **5.1.2 Extracción de orina y cuantificación de la muestra**

Se realizó una incisión longitudinal desde la región pélvica hasta la porción torácica, luego con la ayuda de una jeringa se extrajo orina directamente de la vejiga urinaria y finalmente los resultados fueron cuantificados mediante el uso de tiras reactivas de orinas URIT11V y su posterior lectura en el Urit32B.

### **5.2 Determinación de parámetros sanguíneos y el porcentaje de hematocrito**

Las muestras sanguíneas obtenidas fueron extraídas por punción cardiaca con la ayuda de una jeringa de 1 ml. El volumen obtenido, fue utilizado para la cuantificación del porcentaje de hematocrito y la determinación de los diversos ensayos bioquímicos (D B Morton et al., 1993; Illanes et al., 2013).

#### **5.2.1 Sangre completa**

De acuerdo a la guía para la obtención, conservación y transporte de muestras para análisis toxicológicos 2016, el volumen obtenido fue cuidadosamente almacenado y refrigerado en

tubos Vacutainer con heparina de litio para la cuantificación de los parámetros sanguíneos en el Instituto Conmemorativo Gorgas.

### **5.2.2 Suero**

La otra porción de sangre extraída fue trasvasada a tubos capilares no heparinizados dejándose reposar por 10 minutos, propiciando así la coagulación de las muestras. Pasado el tiempo estipulado, se procedió a colocar los tubos capilares en una centrífuga a 3,000 rpm por 5 minutos a temperatura ambiente con el fin de separar el suero del hematocrito para su cuantificación final. Y posteriormente el suero resultante fue refrigerado para la cuantificación del ácido úrico y la creatinina en las instalaciones del CIPFAR.

## **6. Índice de órganos**

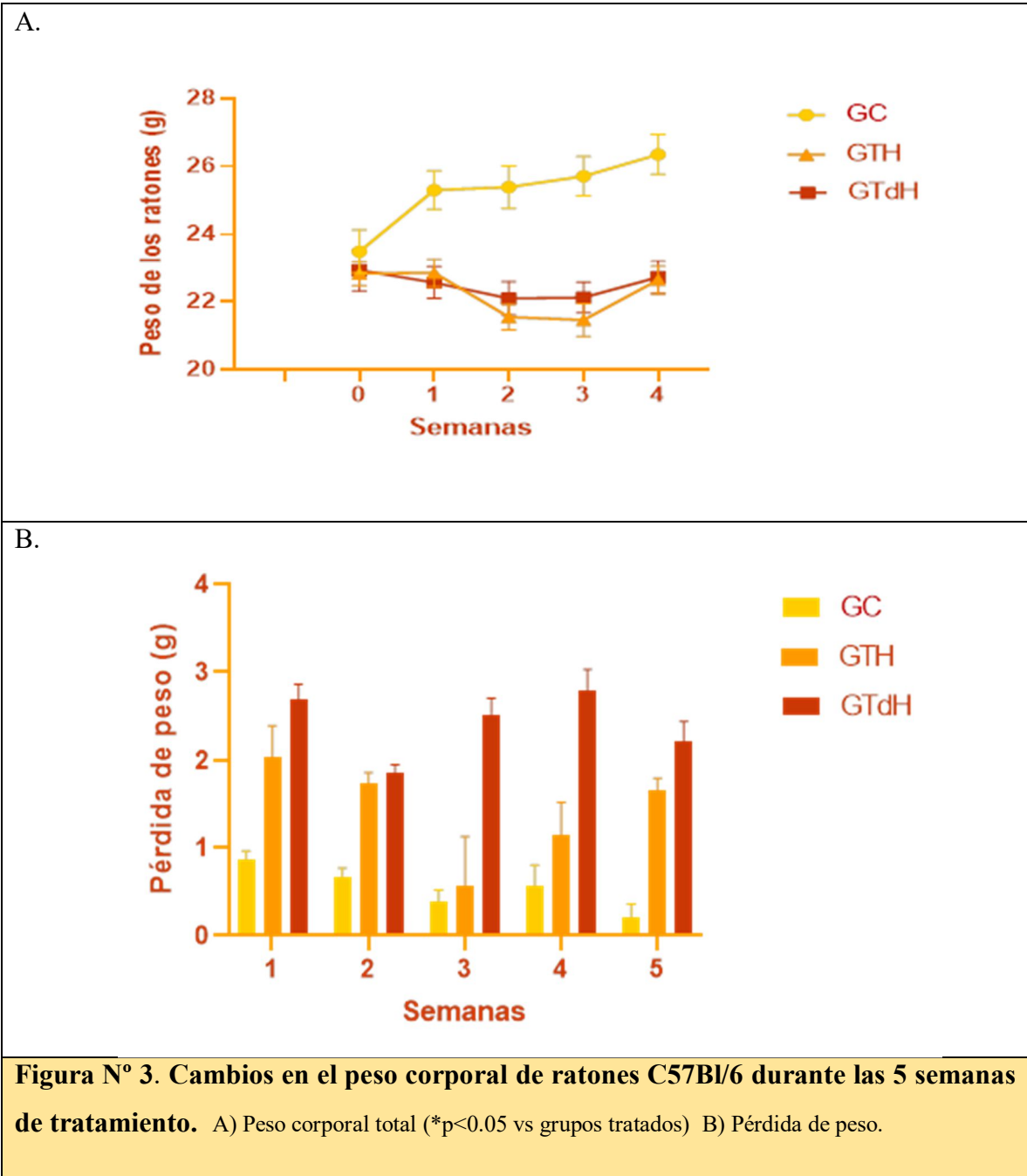
Se le realizó una necropsia al roedor en la cual se le extrajeron y pesaron los siguientes órganos: los riñones, el hígado, el corazón, los pulmones y el bazo.

## CAPITULO III

### PRESENTACIÓN DE LOS RESULTADOS

## 1. **Peso corporal e ingesta nocturna de agua y alimento**

Para la cuantificación del peso corporal, los ratones fueron pesados al inicio y al final de las jornadas de tratamiento durante las 5 semanas de intervención. El cálculo para la pérdida del peso corporal se realizó a través de la siguiente fórmula  $P_f - P_i = P_p$  (Peso final – Peso inicial = Pérdida de peso). Basándonos en lo descrito anteriormente en la Figura N° 3B y la Figura 4, se observa una evidente pérdida de peso en los ratones del GTH y GTdH (GTH 1.64g por semana; GTdH 2.55g por semana) siendo estos últimos los mayormente afectados (debido a la deshidratación recurrente a lo largo del tratamiento). Frente a las ganancias de peso observadas (1g por semana aproximadamente) en los ratones del GC con amplias diferencias significativas tras 4 semanas de tratamiento ( $p < 0.0001$ ) (Figura N° 3A). Y bajo este mismo contexto, cabe destacar las diferencias significativas observadas entre el GTdH y el GTH durante las semanas 3, 4 y 5 ( $p < 0.0001$ ) (Figura N° 3B). Con relación a los valores observados en la Figura N° 4, no se observaron diferencias significativas en el consumo de agua y alimento en ninguno de los grupos de experimentación. No obstante, se observó un ligero aumento en el consumo de agua (ml) (GC 3.2; GTH 3.83; GTdH 5) y una ligera disminución en el consumo de comida (g) (GC 3.66; GTH 3.02; GTdH 3.14) en la cuarta semana de tratamiento en el GTH y GTdH.



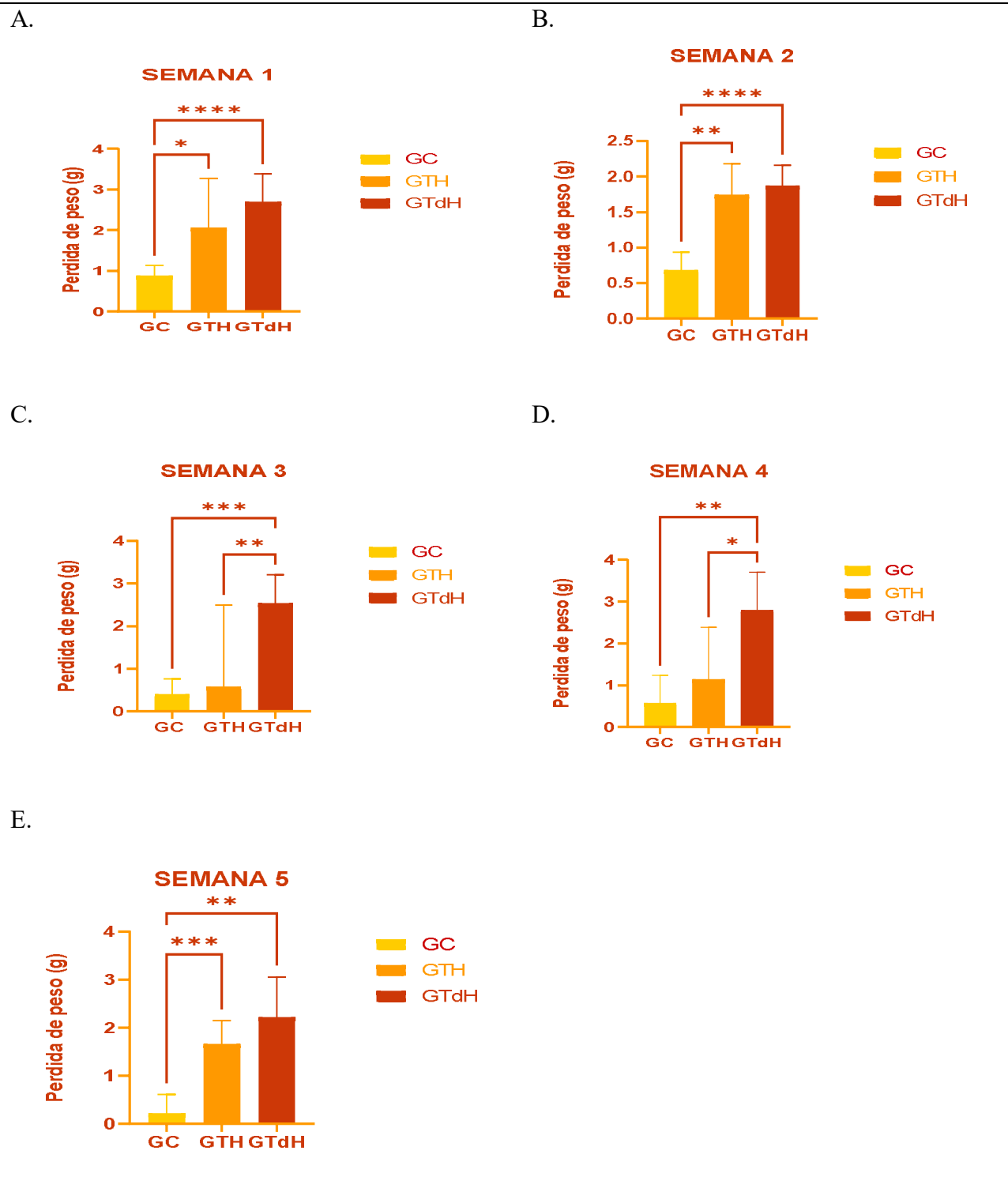
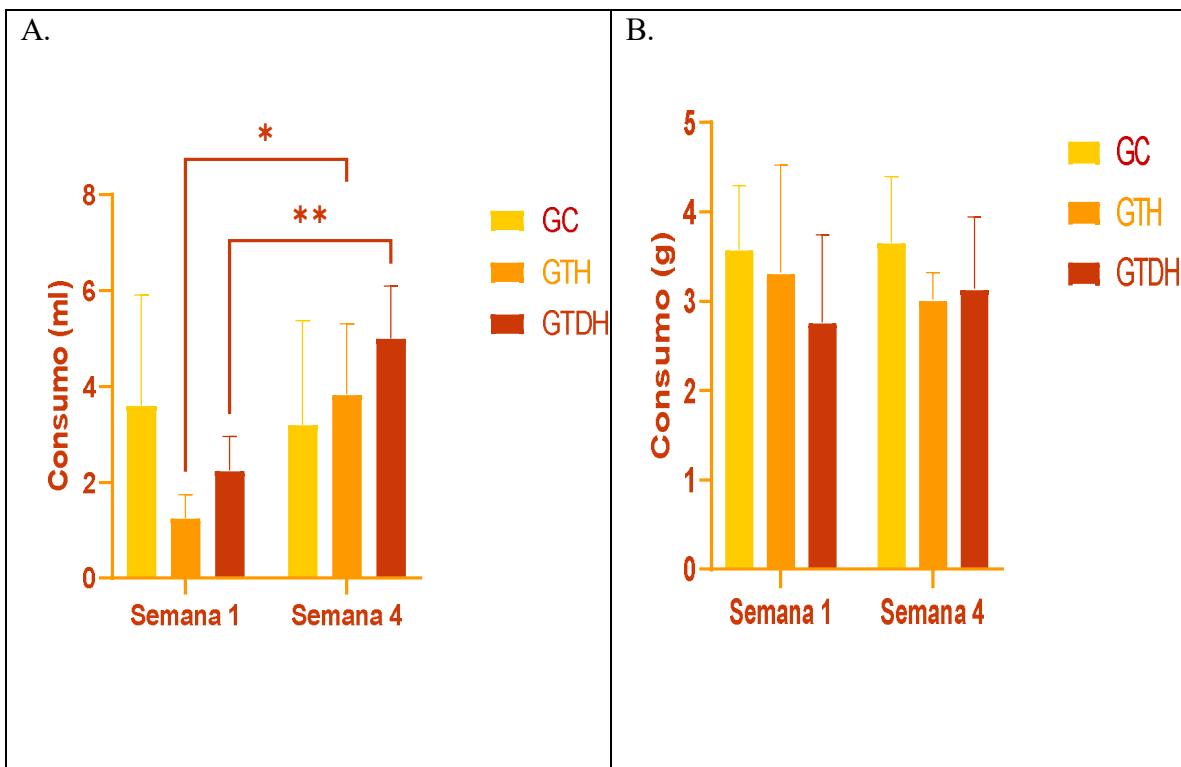


Figura N° 4. Pérdida de peso de ratones C57Bl/6 durante las 5 semanas de tratamiento. \*p<0.05

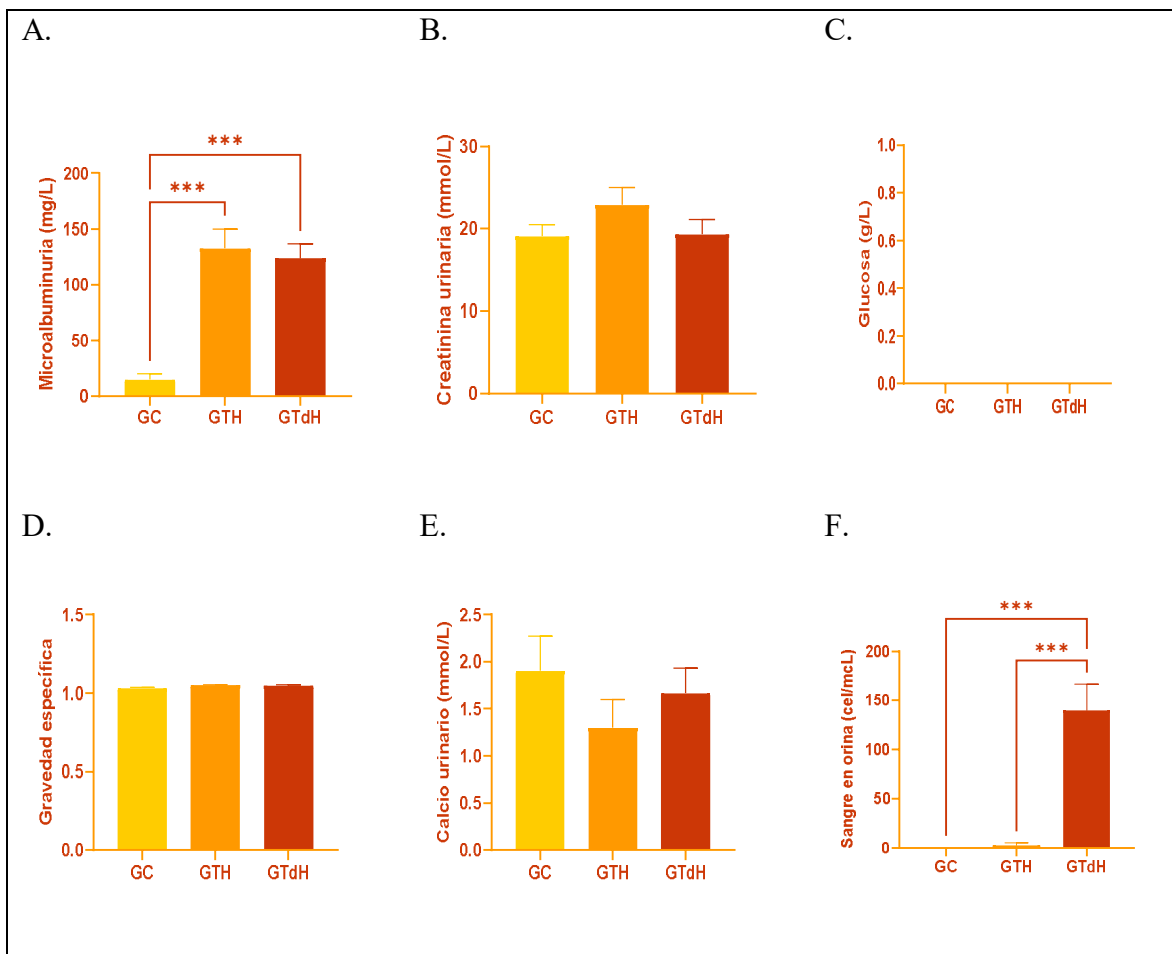


**Figura N° 5. Consumo de agua y de alimento en ratones C57Bl/6 en la primera y cuarta semana de tratamiento. A) Consumo de agua; B) Consumo de comida. \*p<0.005**

## 2. Determinación de los parámetros bioquímicos

### 2.1 Química urinaria

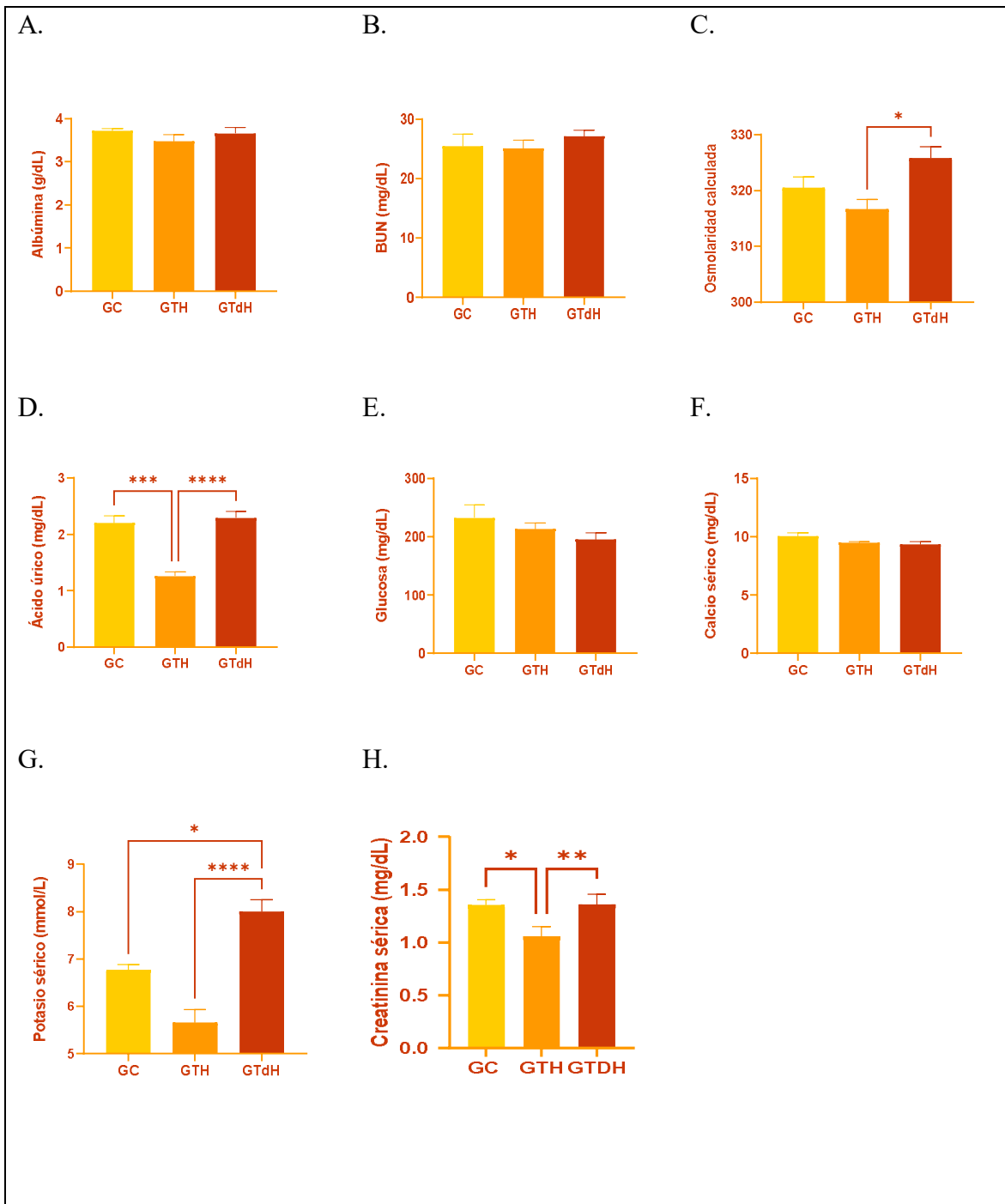
Los parámetros de química urinaria registrados en este experimento fueron obtenidos a través del uso de tiras reactivas URIT11V al culminar las 5 semanas de tratamiento. Como resultado de esto, en la Figura N° 5 no se observan diferencias significativas entre los grupos experimentales en la mayoría de las pruebas realizadas. No obstante se reportó un aumento de la microalbúmina en los ratones tratados (mg/L) (GTH 132.5; GTdH 123.8) vs los valores observados en los ratones del GC (mg/L) (GC 15), con diferencias significativas ( $p=0.0005$ ) (Figura N° 5A). El calcio urinario por su parte, vislumbro un ligero aumento en los ratones del GC (mmol/L) (GC 1.90; GTH 1.30; GTdH 1.67) sin la presencia de diferencias significativas entre los grupos experimentales ( $p=0.6262$ ) (Figura N° 5E). Finalmente se observó una evidente hematuria en los ratones del GTdH (cell/ $\mu$ l) (GC 0; GTH 2.50; GTdH 140), vs a los valores observados en el GC ( $p=0.0001$ ) y el GTH ( $p=0.0005$ ), con diferencias significativas (Figura N° 5F). Respecto a las figuras B, C y D no se encontraron diferencias significativas entre los tres grupos de estudio.



**Figura N° 6. Parámetros urinarios registrados en los distintos grupos de experimentación luego de ser sometidos a condiciones de calor y deshidratación por 5 semanas.** A) Microalbuminuria ; B) Creatinina urinaria; C) Glucosa ; D) Gravedad específica; E) Calcio urinario ; F) sangre en orina. \*  $p < 0.05$

## 2.2 Química sanguínea

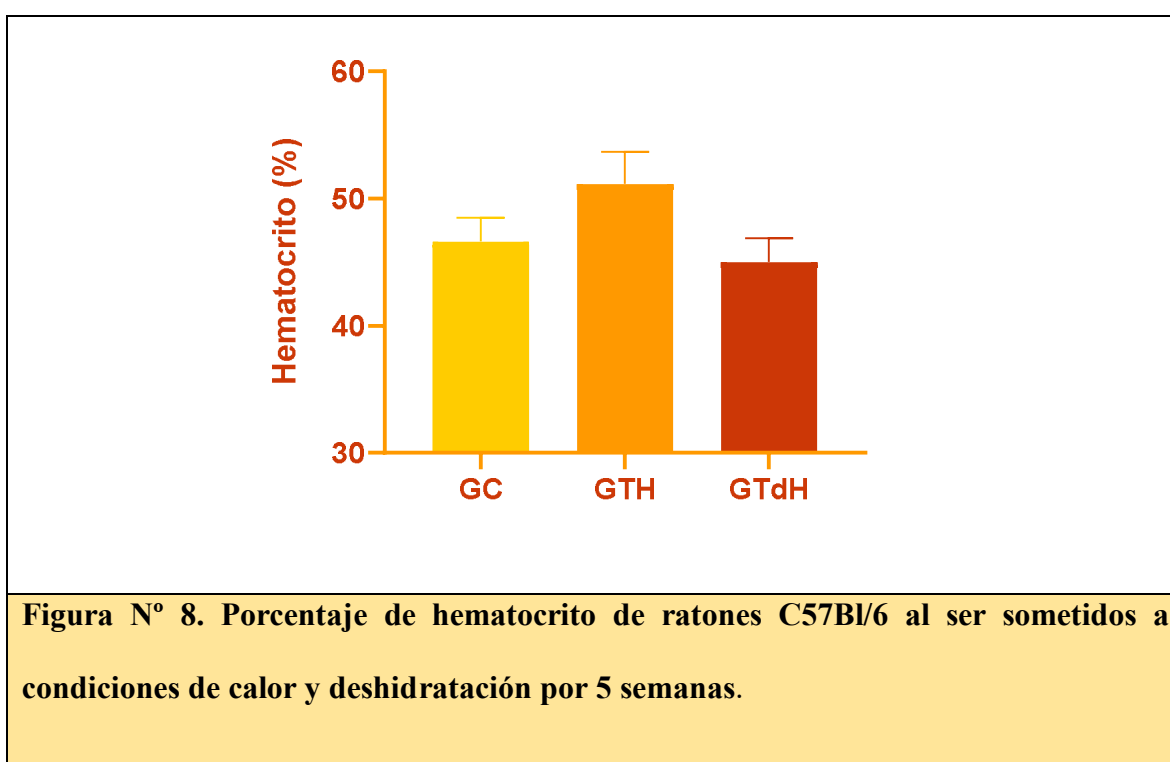
Para llevar a cabo la determinación de los parámetros sanguíneos, las muestras fueron colectadas a través de la punción cardiaca del roedor. Concerniente a los resultados obtenidos en esta experiencia, no se observaron diferencias significativas ( $p=0.7474$ ) en los valores de BUN salvo a un ligero aumento en los ratones del GTdH (mg/dl) (GC 25.5; GTH 25.1; GTdH 27) (Figura N° 6B). Los ratones del GTH reportaron un ligero descenso de la osmolaridad calculada (GC 320; GTH 317; GTdH 326) con respecto a los ratones del GTdH con diferencias significativas ( $p=0.0079$ ) (Figura N° 6C). El potasio sérico por su parte reporto un incremento en los ratones del GTdH (mmol/L) (GC 6.77; GTH 5.66; GTdH 8) con diferencias significativas frente al GC ( $p=0.0213$ ) y el GTH ( $p<0.0001$ ) (Figura N° 6G). Por otra parte, el GC reportó un ligero aumento del calcio (mg/dl) (GC 10.8; GTH 9.49; GTdH 9.36) ( $p=0.1063$ ) (Figura N° 6F) y la glucosa (mg/dl) (GC 233; GTH 214; GTdH 196) ( $p=0.6450$ ) (Figura N° 6E) sin la presencia de diferencias significativas entre los grupos de experimentación. El GTH por su parte, evidencio una ligera disminución del ácido úrico (mg/dl) (GC 2.20; GTH 1.26; GTdH 2.29) con diferencias significativas respecto a los valores observados en los grupos GC ( $p<0.0001$ ) y el GTdH ( $p<0.0001$ ) (Figura N° 6D). Mientras que finalmente el GTdH y el GC no presentaron diferencias significativas entre sí ( $p=0.8358$ ). Finalmente se evidencio un ligero descenso de la creatinina sérica en los ratones del GTH (mg/dl) (GC 1.55; GTH 1.055; GTdH 1.358) con respecto a los ratones del GC ( $p=0.0146$ ) y el GTdH ( $p=0.0050$ ) (Figura N° 6H).



**Figura N° 7. Parámetros sanguíneos obtenidos en los distintos grupos de experimentación luego de ser sometidos a condiciones de calor y deshidratación por 5 semanas.** A) Albúmina (g/L); B) Bun (mg/dl); C) Osmolaridad calculada; D) Ácido úrico (mg/dl); E) Glucosa (mg/dl); F) Calcio sérico (mg/dl); G) Potasio sérico (mmol/L); H) Creatinina sérica (mg/dl). \*p<0.005

### 3. Determinación del porcentaje de hematocritos

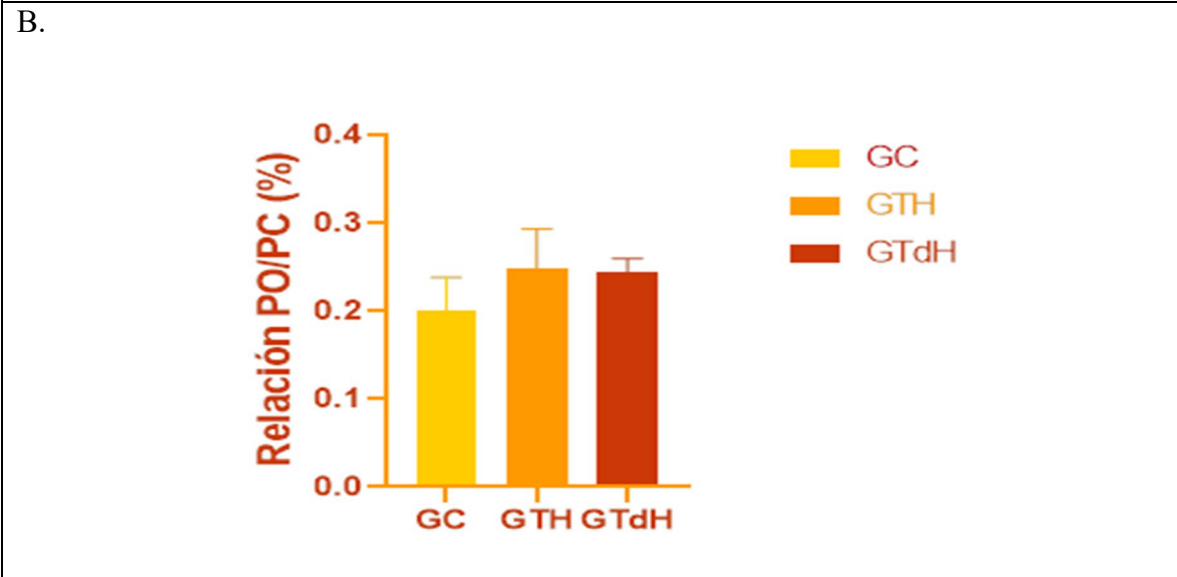
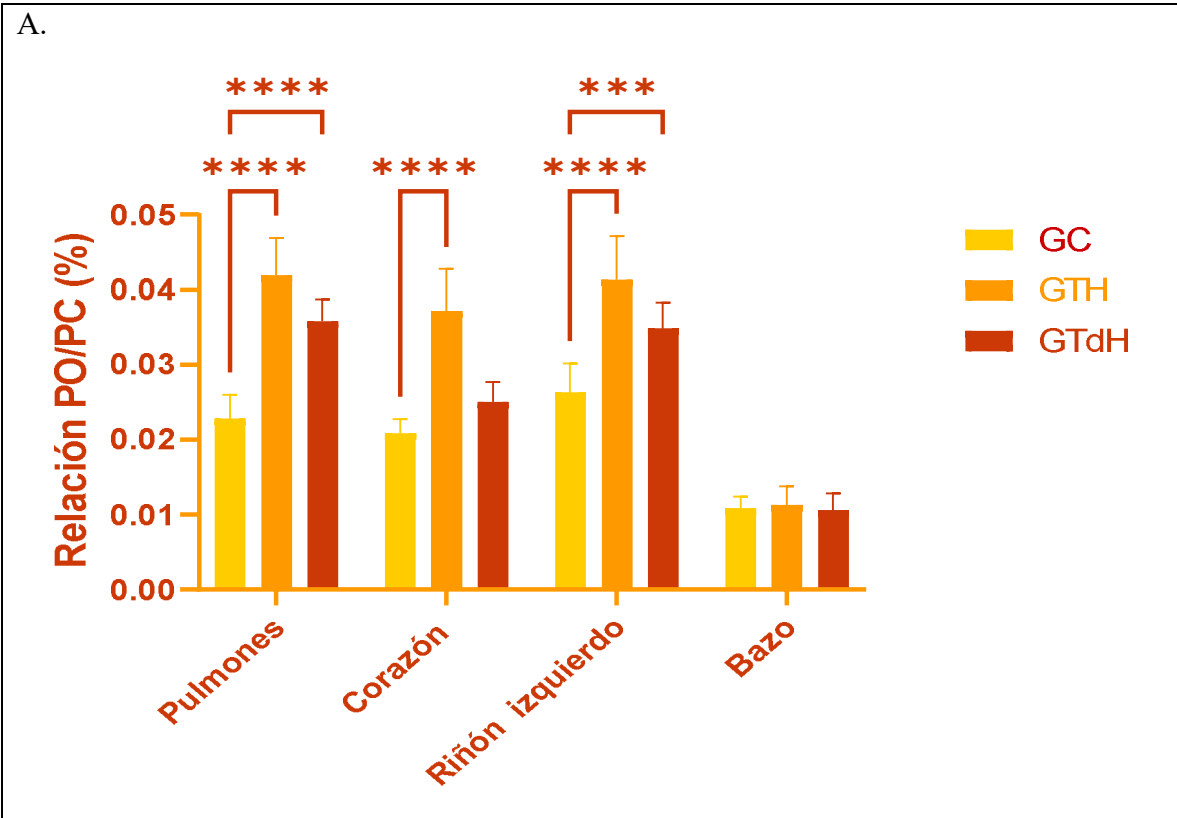
Con el propósito de determinar el porcentaje de hematocrito, la sangre obtenida fue almacenada en capilares no heparinizados, centrifugada por 10 minutos y contabilizada con una regla para la medición del hematocrito. De acuerdo a la Figura N° 7 no se observaron diferencias significativas entre los ratones de experimentación ( $p=0.9492$ ), a excepción de un ligero aumento en los ratones del GTH (%) (GC 46.65; GTH 51.1; GTdH 45)



#### 4. Relación peso del peso del órgano/peso corporal (PO/PC).

Al valorar la relación PO/PC de los roedores, es de suma importancia comprender que los valores del peso del órgano afectan proporcionalmente a la relación; siempre y cuando los valores del peso corporal no sufran cambios. Para el desarrollo de la siguiente experiencia se utilizó la siguiente fórmula:  $(\frac{\text{Peso del organo}}{\text{Peso corporal}})$ . Basados en esta premisa, se vislumbró un ligero aumento de la relación PO/PC en los grupos tratados, reflejada mayormente en los ratones del grupo GTH con diferencias significativas (Tabla N° 4). Mientras que en órganos como el bazo no se encontraron diferencias significativas entre los grupos de experimentación (Tabla N° 4, Figura N° 9).

<b>Tabla N° 4. Relación (PO/PC) de ratones C57Bl/6 al finalizar las 5 semanas del tratamiento.</b>			
	<b>GC</b>	<b>GTH</b>	<b>GTdH</b>
<b>Pulmones</b>	0.0228	0.0418	0.0357
<b>Corazón</b>	0.0208	0.0371	0.0250
<b>Hígado</b>	0.202	0.248	0.243
<b>Riñón izquierdo</b>	0.0263	0.0412	0.0347
<b>Bazo</b>	0.0108	0.0112	0.0105



**Figura N° 9. Relación (PO/PC) de ratones C57Bl/6 al finalizar las 5 semanas del tratamiento.** A) Los pulmones, el corazón, el riñón izquierdo y el bazo; B) El hígado. \*p<0.005

## CAPITULO IV

### DISCUSIÓN

La ERCnT es una enfermedad silenciosa y progresiva. Esta nueva etiología, al igual que la ERC, representa la vía final de un sin número de condiciones degenerativas que desencadenan desbalances en la salud del paciente (Ávila-Saldivar, 2013). Como resultado del desconocimiento de sus factores de riesgos, diversos ensayos han determinado que las altas temperaturas, los periodos prolongados de deshidratación y el trabajo forzoso son las hipótesis mayormente aceptadas. Como respuesta a esta problemática, el siguiente estudio desarrollo un plan estratégico para el estudio de la ERCnT.

## **Peso corporal e ingesta nocturna de agua y alimento**

### **1.1 Peso corporal**

En el siguiente estudio, los pesos estimados de los roedores durante las jornadas de tratamiento reflejaron una disminución significativa en los grupos tratados (Figura N° 3). Mientras que los ratones del grupo GC reflejaron un incremento significativo del peso corporal. Con relación a estos resultados, Roncal Jiménez et al., 2014 registró una pérdida diaria del 8% del peso corporal en ratones del grupo GTH y un 15% para el grupo GTdH. Situación que resulto contraria a las ganancias obtenidas por los ratones del grupo GC a lo largo del ensayo, estos resultados fueron muy similares a las dinámicas de perdida y ganancia de peso observadas en este estudio. Con respecto a los resultados observados en los grupos tratados, las condiciones de calor y deshidratación pudiesen haber incrementado la tasa metabólica y la demanda energética (ATP) del roedor. Estudios sugieren que ante un aumento en la relación de AMP/ATP en el organismo, (como resultado del incremento en la demanda energética) el mismo favorecerá la activación de vías energéticas como la glucólisis, la oxidación de los ácidos grasos y la reducción de las reservas del glucógeno. Vías las cuales

están reguladas por el complejo AMPcinasa, enzima encargada del equilibrio energético y la reposición de ATP y AMP (Miranda et al., 2007).

Finalmente, estudios reflejaron que tras una semana de tratamiento no se encontraron diferencias significativas entre el peso corporal de los ratones del GC vs los ratones GTdH. Tales hechos sugieren, que la pérdida de peso corporal podría estar relacionada con la duración de las semanas de tratamiento (Yángüez et al., 2022).

## **1.2 Consumo de agua y alimento**

Con relación a la ingesta nocturna de agua y alimentos, no se observaron diferencias significativas entre los grupos de experimentación. No obstante, estos resultados reflejaron un ligero aumento en el consumo de agua y una ligera disminución en el consumo de comida en la cuarta semana del tratamiento de los grupos tratados. Mientras que los ratones del GC reportaron un ligero aumento en la ingesta de agua. Con relación a este panorama, diversos ensayos murinos han reportado un incremento significativo en la ingesta nocturna de agua en los grupos tratados, resultados que se asemejan a los observados en este estudio (Roncal Jimenez et al., 2014). Resultados que a su vez contradicen los reportados por Hilliard et al., 2016, el cual registró un ligero aumento en la ingesta de agua (al igual que en nuestro estudio) y comida en los roedores del GC con diferencias significativas. Con respecto a los resultados presentados, los ratones han sido descritos como animales mayormente nocturnos (Torres et al., 2017). Esto podría guardar relación con los ligeros incrementos en la ingesta nocturna de agua y alimento. Producto de la variabilidad y la escasez de estos ensayos en modelos murinos, es de suma importancia el aumento de propuestas científicas las cuales estudien estas variables.

## **Determinación de los parámetros bioquímicos**

### **2.1 Química urinaria**

Al valorar los resultados obtenidos en las tiras reactivas, no se observaron diferencias significativas entre los grupos experimentales en la mayoría de las pruebas realizadas. A diferencia de un ligero aumento de la microalbúmina en los ratones del GTH y GTdH (mg/L) (GC 15; GTH 132; GTdH 123.8) (Figura N° 5A). Debido a que en la orina la excreción de proteínas es baja y normalmente están conformadas por proteínas de bajo peso molecular, un ligero aumento en la excreción de microalbúmina no suele ser grave. Pero a pesar de este panorama, este parámetro suele ser ampliamente utilizado para la detección temprana de un fallo renal agudo. Las alteraciones de los componentes de la barrera de filtración por diversos agentes estresores, suelen cambiar la permeabilidad selectiva de la membrana. En consecuencia, aumentando la excreción de albúmina y proteínas de alto peso molecular. A esta condición final se le conoce como proteinuria, y es considerada como uno de los indicadores de daño renal y los cuales refleja el progreso de la enfermedad en la salud del paciente (Carvajal-Carvajal, 2017).

Por otro lado, en los ratones del GTdH se observó una hematuria evidente. La misma, podría ser el resultado de diversos procesos inflamatorios ocurridos en las estructuras que componen al sistema excretor (la vejiga, los riñones y la uretra). Bajo esta misma premisa, estudios indican que largas jornadas de estrés físico podrían comprometer la funcionalidad del riñón. Esto se debe a que en las jornadas de ejercicio extenuante, el corazón prioriza la irrigación de los músculos involucrados en la actividad física disminuyendo el flujo sanguíneo en otros órganos (como por ejemplo los riñones).

Favoreciendo así, el paso de los glóbulos rojos a través de la barrera de filtración y su posterior expulsión a través de la uretra (Shephard, 2016).

García-Arroyo et al., 2016 reportó que tras 4 semanas de deshidratación recurrente, los grupos tratados reportaron un aumento en la excreción de urea y no presentaron diferencias significativas en los valores de creatinina (condición similar a la observada en nuestro estudio). Estos resultados sugieren, que el ensayo realizado no afectó significativamente las funciones generales de excreción del riñón. Pero debido a la pérdida de fluidos durante el tratamiento (producto de la deshidratación), disminuyó el volumen de orina excretado (a raíz de la activación de la hormona antidiurética y la posterior retención de agua) aumentando los valores de urea (Repetto, 2014).

Por otro lado, Hilliard et al., 2016 observó un aumento de la osmolaridad urinaria en ratones experimentales luego de 16 horas de deshidratación. Valores similares a los que obtuvo Bekkevold et al., 2013 el cual luego de 48 horas de deshidratación observó un ligero aumento del sodio y el potasio urinario, (mEq) (sodio 231; potasio 466). Finalmente Sato et al., 2019 reportó un aumento de la osmolaridad y la albuminuria en ratones sometidos a condiciones de calor extenuante (mg) (GC 18; GTdH 30). Datos que concuerdan con el ligero aumento de la microalbúmina en los grupos tratados luego de las 5 semanas de tratamiento (observado en nuestro tratamiento). Producto de la deshidratación recurrente de los ratones, los mismos reportaron un aumento en la osmolaridad urinaria excretando orinas más concentradas (aumento en la concentración de iones y proteínas) y en volúmenes reducidos. Estos eventos sostenidos en el tiempo podrían ocasionar daños irreversibles en las estructuras renales. Lo cual acabaría

disminuyendo su funcionalidad de manera progresiva y finalizando en un fallo renal terminal (Simmons, 2010).

## **2.2 Química sanguínea**

Concerniente a estos resultados diversos estudios han reportado un aumento de la osmolaridad sérica luego de diversos periodos de deshidratación y altas temperaturas, observándose una osmolaridad promedio de 320 mosm/kg en el GC y 340 mosm/kg en los grupos tratados (Bekkevold et al., 2013; Milagres et al., 2018; Song et al., 2017). Estos resultados resultan similares a los observados en este estudio, en donde se observó un ligero aumento de la osmolaridad calculada en el GTdH (GC 320; GTH 318; GTdH 325). De acuerdo a diversos estudios científicos el aumento de la osmolaridad calculada se origina a partir de la pérdida significativa de agua, como resultado de los eventos prolongados de deshidratación. Eventos, que resultan en el descenso considerable de la volemia y el aumento de la concentración de partículas e iones por volumen sanguíneo (Espinosa García et al., 2021).

De acuerdo a los resultados reflejados en la FIGURA N° 6G, se observó un ligero aumento del potasio sérico en los ratones del GTdH (como resultado de la pérdida de agua recurrente durante las jornadas de tratamiento). Estudios sostienen que altos niveles de potasio en sangre (hiperpotasemia) podrían estar relacionado con el deterioro de las funciones renales de filtración y excreción de sustancias. El deterioro de estas funciones a largo plazo, representan un riesgo para la homeostasis y el equilibrio electrolítico de este ion. De modo que altas concentraciones del mismo, podrían ocasionar anomalías en el ritmo cardiaco (arritmias cardíacas) (Belmar Vega et al., 2019).

Con relación a otros parámetros sanguíneos, en ensayos realizados por Sato et al., 2019 reportaron valores de creatinina sérica (mg/dl) (GC 0.79; GT 0.62) y Bun (mg/dl) (GC 25.25; GT 23.65) en ratones C57bl/j luego de 10 días de exposición a altas temperaturas. A pesar de la brevedad del ensayo, el mismo mostro similitud con los datos de Bun sérico observados en este estudio (mg/dl) (GC 25.50; GTH 25.12; GTdH 27.16). Mientras que los valores obtenidos de creatinina sérica (mg/dl) (GC 1.4; GTH 1; GTdH 1.4) en esta investigación, fueron más altos a los reportados por Sato et al., 2019. La concentración sérica del Bun y la creatinina son dos grandes indicadores de la salud del riñón y a su vez son dos parámetros útiles en el estudio de la ERCnT. Estas sustancias de desecho, se originan a partir de la descomposición de moléculas de mayor tamaño durante los procesos metabólicos. De modo que al estar frente a altas concentraciones de las mismas, podrían inferir daños en la función renal (excreción). (Healthwise, 2023). A pesar del conocimiento de este panorama, los resultados observados en este estudio no muestran diferencias significativas entre los grupos experimentación. Esto sugiere que la metodología de experimentación empleada en este modelo murino no causó daños significativos en la fisiología renal de los roedores.

El monitoreo constante de la glicemia durante las 5 semanas de tratamiento, con el fin de evitar falsos positivos, resulto de gran importancia para esta investigación. El deterioro de las funciones renales a causa de la diabetes, representa uno de los factores de riesgos tradicionales de la ERC. Por lo tanto, de acuerdo a los parámetros suministrados por el INDICASAT- AIP los grupos de experimentación se mantuvieron dentro de los rangos aceptables de glucosa (rango de glucosa: 172-372 mg/dl) (GC 233; GTH 213.8; GTdH 195.8).

### **3 Hematocrito**

Con el propósito de comparar los resultados obtenidos en este estudio. Ensayos realizados por Bekkevold et al., 2013 registraron un incremento en el porcentaje de hematocrito de los ratones tratados con respecto al GC (luego de 48 horas de tratamiento) (GC 51%; Grupos Tratados 61%). Estos resultados al igual que los obtenidos en este estudio, sugieren que el porcentaje de hematocrito aumenta ligeramente durante las jornadas de calor y deshidratación recurrente. Estos eventos sanguíneos en primera instancia, son el resultado de la pérdida de agua a través del calor y la deshidratación. Estas condiciones, acaban por disminuir el volumen plasmático (hipovolemia) aumentando el conteo de glóbulos rojos por volumen sanguíneo total. Bajo esta misma premisa, una disminución transitoria en el volumen de hematocritos (como ocurrió en los ratones GTdH) sugiere que el roedor podría estar experimentando una expansión en su volumen plasmático (fenómeno conocido como pseudoanemia dilucional) (Matijasevic Arcila, 2007). Finalmente estudios indican que la aparición de lesiones renales como resultado de la exposición recurrente a estresores ambientales, podrían repercutir gravemente en la funcionalidad del órgano y disminuir su actividad glandular. Lo que en consecuencia terminaría disminuyendo la secreción de eritropoyetina (EPO), hormona y principal agente estimulador de la producción de glóbulos rojos en la médula ósea (Cases et al., 2018).

### **4 Relación PO/PC**

La relación del PO/PC fue obtenida a través de la división del peso promedio del órgano frente al peso promedio del grupo de experimentación. De acuerdo a estudios realizados en ratones C57Bl/6 con 9 semanas de nacido Fuentes & Candela, 2003, reportó valores más

altos (g) (hígado 0.425; bazo 0.0323; riñón izquierdo 0.0503; el corazón 0.0377 y los pulmones 0.0509) a los observados en el GC de este estudio. Bajo esta misma premisa, Yángüez et al., 2022 a través de eventos prolongados de calor y deshidratación en ratones C57Bl/6, observo una disminución en la relación del PO/PC en los ratones del grupo GTdH. Situación que resulta contraria, a los datos obtenidos en este estudio, en donde los valores más bajos pertenecen a los ratones del grupo control. La alta variabilidad de esta relación en los diversos estudios se debe a los cambios del peso corporal promedio de los distintos grupos de experimentación, sugiriendo que una disminución del peso corporal refleja un aumento directo en la relación de esta variable. De manera que, si cada uno de los estudios antes mencionados son evaluados de manera aislada. La relación PO/PC refleja un ligero aumento en los grupos tratados (GTH y GTdH) (producto de la pérdida de peso y agua registradas en las semanas de tratamiento) y un ligero descenso en los ratones del GC.

## CONCLUSIONES

1. Con el propósito de incrementar la tasa de supervivencia de los roedores a lo largo del tratamiento, es de gran importancia la aclimatación previa de los mismos (durante 2 semanas).
2. Los resultados obtenidos en este estudio sugieren que las variables medioambientales como el calor y la deshidratación podrían provocar daños sistémicos los cuales podrían alterar el equilibrio, hídrico, osmótico y renal de los ratones.
3. La exposición prolongada a condiciones de calor y deshidratación provocan una disminución progresiva del peso corporal, relacionada con la pérdida significativa de agua a lo largo de las jornadas de tratamiento, provocando un aumento en la relación PO/PC.
4. Durante las jornadas de tratamiento, los eventos prolongados de calor y deshidratación provocaron un aumento en la osmolaridad sérica (como resultado de la pérdida de agua). Aumentando de manera progresiva la concentración de iones y partículas por volumen de sangre (alterando el equilibrio osmótico del roedor). Esta pérdida de agua provocaría la disminución del volumen sanguíneo y por consiguiente el trabajo forzado de algunos órganos tales como los riñones y el corazón.
5. Al finalizar las jornadas de tratamiento los ratones tratados presentaron un ligero aumento en la excreción de proteínas a través de la orina, eventos que sugieren un daño en la barrera de filtración de las nefronas. Y por su parte los ratones del GTdH presentaron una excreción elevada de sangre en la orina, eventos que podrían estar relacionados con ligeros daños en las estructuras renales y en el sistema urinario.

## RECOMENDACIONES

1. Es de vital importancia realizar jornadas de monitoreo, diálisis y exámenes clínicos a los pacientes afectados por esta nueva etiología.
2. Aumentar la visibilidad y la difusión de esta nueva etiología a través de los medios de comunicación y las campañas de prevención en las zonas mayormente afectadas.
3. Mejorar los sistemas de salud en las zonas agrícolas de nuestro país, para que los agricultores y las poblaciones aledañas cuenten con una atención digna.
4. Que todos los trabajadores procuren hidratarse de manera recurrente al estar sometido a condiciones de calor extenuante, alternando las jornadas laborales con tiempos de calor y sombra (descanso).
5. Es indispensable contar con un estilo de vida saludable, evitando el consumo excesivo de refrescos, bebidas alcohólicas, la exposición sostenida a sustancias tóxicas y la poca ingesta de agua.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Ávila-Saldivar, M. N. (2013). Enfermedad renal crónica: Prevención y detección temprana en el primer nivel de atención. *Medicina Interna de Mexico*, 29(2).
2. Bekkevold, C. M., Robertson, K. L., Reinhard, M. K., Battles, A. H., & Rowland, N. E. (2013). Dehydration parameters and standards for laboratory mice. *Journal of the American Association for Laboratory Animal Science*, 52(3).
3. Belmar Vega, L., Galabia, E. R., Bada da Silva, J., Bentanachs González, M., Fernández Fresnedo, G., Piñera Haces, C., Palomar Fontanet, R., Ruiz San Millán, J. C., & de Francisco, Á. L. M. (2019). Epidemiología de la hiperpotasemia en la enfermedad renal crónica. *Nefrología*, 39(3).  
<https://doi.org/10.1016/j.nefro.2018.11.011>
4. Bikbov, B., Purcell, C. A., Levey, A. S., Smith, M., Abdoli, A., Abebe, M., Adebayo, O. M., Afarideh, M., Agarwal, S. K., Agudelo-Botero, M., Ahmadian, E., Al-Aly, Z., Alipour, V., Almasi-Hashiani, A., Al-Raddadi, R. M., Alvis-Guzman, N., Amini, S., Andrei, T., Andrei, C. L., ... Vos, T. (2020). Global, regional, and national burden of chronic kidney disease, 1990–2017: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2017. *The Lancet*, 395(10225), 709–733.  
[https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(20\)30045-3](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(20)30045-3)
5. Boffa, J.-J., & Cartery, C. (2015). Insuficiencia renal crónica o enfermedad renal crónica. *EMC - Tratado de Medicina*, 19(3), 1–8. [https://doi.org/10.1016/S1636-5410\(15\)72803-5](https://doi.org/10.1016/S1636-5410(15)72803-5)
6. Carvajal-Carvajal, C. (2017). Revisión bibliográfica. Proteinuria y microalbuminuria. *Medicina Legal de Costa Rica*, 34(1).
7. Cases, A., Egocheaga, M. I., Tranche, S., Pallarés, V., Ojeda, R., Górriz, J. L., & Portolés, J. M. (2018). Anemia en la enfermedad renal crónica: protocolo de estudio,

- manejo y derivación a Nefrología. *Nefrología*, 38(1), 8–12.  
<https://doi.org/10.1016/j.nefro.2017.09.004>
8. Centros para el Control y la Prevención de Enfermedades. (2023). *Enfermedad crónica de los riñones en los Estados Unidos*.
  9. Cerón, A. (2020). La determinación social de la enfermedad renal crónica de causas no tradicionales (ERCnT) en Guatemala. *Ciencia, Tecnología y Salud*, 7(1).  
<https://doi.org/10.36829/63CTS.v7i1.878>
  10. Chavarría, A., & Méndez, E. (2016). *Mortalidad y egresos hospitalarios por enfermedad renal crónica compatibles con enfermedad crónica de causas no tradicionales, Costa Rica*. 58(1), 4–14.
  11. Correa-Rotter, R., & García-Trabanino, R. (2019). Mesoamerican Nephropathy. *Seminars in Nephrology*, 39(3), 263–271.  
<https://doi.org/10.1016/J.SEMNEPHROL.2019.02.004>
  12. Correa-Rotter, R., Wesseling, C., & Johnson, R. J. (2014). CKD of Unknown Origin in Central America: The Case for a Mesoamerican Nephropathy. *American Journal of Kidney Diseases*, 63(3), 506–520. <https://doi.org/10.1053/J.AJKD.2013.10.062>
  13. Daniel Marín-Trigueiros, Sylvia Guadamuz-Hernandez, & Francinny Salas-Garita. (2020). Nefropatía Mesoamericana. *Revista de Medicina Legal de Costa Rica*, 37(1), 121–129.
  14. Espinosa García, M. M., Daniel Guerrero, A. B., Durán Cárdenas, C., & Hernández Gutiérrez, L. S. (2021). Deshidratación en el paciente adulto. *Revista de La Facultad de Medicina*, 64(1). <https://doi.org/10.22201/fm.24484865e.2020.64.1.03>
  15. Fuentes, M., & Candela, E. (2003). PESO DE LOS ÓRGANOS EN RELACIÓN AL PESO CORPORAL EN RATONES C57Bl/ 6 y NMRI / UCLA Weight of Organs in

- Relation Body Weight in C57Bl / 6 and NMRI / UCLA Mice. *Revista Científica, FCV-LUZ / Vol. XIII, Nº 5, 389-402, 2003, XIII(5), 389–402.*
16. García-Arroyo, F. E., Cristóbal, M., Arellano-Buendía, A. S., Osorio, H., Tapia, E., Soto, V., Madero, M., Lanaspá, M. A., Roncal-Jiménez, C., Bankir, L., Johnson, R. J., & Sánchez-Lozada, L.-G. (2016). Rehydration with soft drink-like beverages exacerbates dehydration and worsens dehydration-associated renal injury. *American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology, 311(1), R57–R65.* <https://doi.org/10.1152/ajpregu.00354.2015>
  17. García-García, G., & Jha, V. (2015). Enfermedad renal crónica en poblaciones en desventaja. *Revista Médica , 6, 92–95.*
  18. García-Trabanino, R., Arroyo, L., Courville, K., Chica, C. I., Bohorques, R., Rodríguez, G., Oyuela, J., Moraes, T., Martínez, H., & Álvarez Estevez, G. (2018). La diálisis peritoneal en Centroamérica y el Caribe: estado actual, necesidades y propuestas. *Nefrología Latinoamericana, 15(2).* <https://doi.org/10.24875/nefro.18000041>
  19. García, R., & Correa, R. (2020). Nefropatía Endémica Mesoamericana. *Nefrología Al Día.*
  20. Gimeno, F., Gimeno, F., Cejalvo, B., Bolani Hernández, & Lloris Carsi. (1990). Anestesia en el Animal de Laboratorio. Parte 2. *Centro de Investigación. Hospital General Universitario de Valencia.*
  21. Gorostidi, M., Sánchez-Martínez, M., Ruilope, L. M., Graciani, A., de la Cruz, J. J., Santamaría, R., del Pino, M. D., Guallar-Castillón, P., de Álvaro, F., Rodríguez-Artalejo, F., & Banegas, J. R. (2018). Prevalencia de enfermedad renal crónica en España: impacto de la acumulación de factores de riesgo cardiovascular. *Nefrología,*

38(6). <https://doi.org/10.1016/j.nefro.2018.04.004>

22. Healthwise. (2023). *Nitrógeno ureico en sangre*. 1–2.
23. Hilliard, L. M., Colafella, K. M. M., Bulmer, L. L., Puelles, V. G., Singh, R. R., Ow, C. P. C., Gaspari, T., Drummond, G. R., Evans, R. G., Vinh, A., & Denton, K. M. (2016). Chronic recurrent dehydration associated with periodic water intake exacerbates hypertension and promotes renal damage in male spontaneously hypertensive rats. *Scientific Reports*, 6. <https://doi.org/10.1038/srep33855>
24. Johnson, R. J., & Sánchez-Lozada, L. G. (2013). Chronic kidney disease: Mesoamerican nephropathy-new clues to the cause. *Nature Reviews. Nephrology*, 9(10).
25. Levey, A. S., De Jong, P. E., Coresh, J., Nahas, M. El, Astor, B. C., Matsushita, K., Gansevoort, R. T., Kasiske, B. L., & Eckardt, K. U. (2011). The definition, classification, and prognosis of chronic kidney disease: A KDIGO Controversies Conference report. *Kidney International*, 80(1). <https://doi.org/10.1038/ki.2010.483>
26. López, E. (2008). Enfermedad renal crónica; definición y clasificación. *El Residente*, 3(3), 73–78.
27. Matijasevic Arcila, E. (2007). Valores de hematocrito y de hemoglobina en deportistas evaluados en Instituto de Deportes de Medellín (Colombia). *Acta Médica Colombiana*, 32(4).
28. Milagres, T., García-Arroyo, F. E., Lanaspá, M. A., García, G., Ishimoto, T., Andres-Hernando, A., Kuwabara, M., Jensen, T., Sato, Y., Glaser, J., Sánchez-Lozada, L. G., Johnson, R. J., & Roncal-Jimenez, C. (2018). Rehydration with fructose worsens dehydration-induced renal damage. *BMC Nephrology*, 19(1), 180. <https://doi.org/10.1186/s12882-018-0963-9>

29. Miranda, N., Tovar, A. R., Palacios, B., & Torres, N. (2007). La AMPK como un sensor de energía celular y su función en el organismo. In *Revista de Investigacion Clinica* (Vol. 59, Issue 6).
30. Organización Mundial de la Salud. (2017). *EPIDEMIA DE ENFERMEDAD RENAL CRÓNICA EN COMUNIDADES AGRÍCOLAS DE CENTROAMÉRICA* (W. Hoy & Ordunez Pedro (eds.)).
31. Repetto, H. A. (2014). Hormona antidiurética, 2014. *Archivos Argentinos de Pediatría*, 12(2). <https://doi.org/10.5546/aap.2014.153>
32. Rodríguez, F., Cuero, C., Delgado, E., Camargo, I., & Tuñón, R. (2014). Diagnóstico de la Enfermedad Renal Crónica y Factores de Riesgo Asociados en Áreas Seleccionadas. *Revista Médica de Panamá*, 34.
33. Roncal-Jimenez, C., García-Trabanino, R., Barregard, L., Lanaspá, M. A., Wesseling, C., Harra, T., Aragón, A., Grases, F., Jarquin, E. R., González, M. A., Weiss, I., Glaser, J., Sánchez-Lozada, L. G., & Johnson, R. J. (2016). Heat Stress Nephropathy From Exercise-Induced Uric Acid Crystalluria: A Perspective on Mesoamerican Nephropathy. *American Journal of Kidney Diseases*, 67(1), 20–30. <https://doi.org/10.1053/J.AJKD.2015.08.021>
34. Roncal Jimenez, C. A., Ishimoto, T., Lanaspá, M. A., Rivard, C. J., Nakagawa, T., Ejaz, A. A., Cicerchi, C., Inaba, S., Le, M., Miyazaki, M., Glaser, J., Correa-Rotter, R., González, M. A., Aragón, A., Wesseling, C., Sánchez-Lozada, L. G., & Johnson, R. J. (2014). Fructokinase activity mediates dehydration-induced renal injury. *Kidney International*, 86(2), 294–302. <https://doi.org/10.1038/ki.2013.492>
35. Sato, Y., Roncal-Jimenez, C. A., Andres-Hernando, A., Jensen, T., Tolan, D. R., Sanchez-Lozada, L. G., Newman, L. S., Butler-Dawson, J., Sorensen, C., Glaser, J.,

- Miyazaki, M., Diaz, H. F., Ishimoto, T., Kosugi, T., Maruyama, S., Garcia, G. E., Lanaspa, M. A., & Johnson, R. J. (2019). Increase of core temperature affected the progression of kidney injury by repeated heat stress exposure. *American Journal of Physiology - Renal Physiology*, 317(5), F1111–F1121. <https://doi.org/10.1152/ajprenal.00259.2019>
36. Sellarés, V., Rodríguez, L., & Desireé, L. (2022). *Enfermedad Renal Crónica*.
37. Shephard, R. J. (2016). Exercise proteinuria and hematuria: Current knowledge and future directions. In *Journal of Sports Medicine and Physical Fitness* (Vol. 56, Issue 9).
38. Simmons, S. (2010). Deshidratación aguda. *Nursing (Ed. Española)*, 28(9). [https://doi.org/10.1016/s0212-5382\(10\)70454-4](https://doi.org/10.1016/s0212-5382(10)70454-4)
39. Song, Z., Roncal-Jimenez, C. A., Lanaspa-Garcia, M. A., Oppelt, S. A., Kuwabara, M., Jensen, T., Milagres, T., Andres-Hernando, A., Ishimoto, T., Garcia, G. E., Johnson, G., MacLean, P. S., Sanchez-Lozada, L. G., Tolan, D. R., & Johnson, R. J. (2017). Role of fructose and fructokinase in acute dehydration-induced vasopressin gene expression and secretion in mice. *Journal of Neurophysiology*, 117(2), 646–654. <https://doi.org/10.1152/jn.00781.2016>
40. Torres, J., Rios, S., Sanchez, J., De ka Sancha, N., & Teta, P. (2017). *Libro Rojo de los Mamíferos del Paraguay Especies amenazadas de extincion*.
41. Wesseling, C., & Weiss, I. (2017). Chronic kidney disease of unknown or nontraditional origin: a new global epidemic? *Archivos de Prevención de Riesgos Laborales*, 20(4), 200–202. <https://doi.org/10.12961/apr1.2017.20.04.1>
42. Wijkström, J., Leiva, R., Elinder, C. G., Leiva, S., Trujillo, Z., Trujillo, L., Söderberg, M., Hulthenby, K., & Wernerson, A. (2013). Clinical and Pathological

Characterization of Mesoamerican Nephropathy: A New Kidney Disease in Central America. *American Journal of Kidney Diseases*, 62(5), 908–918.  
<https://doi.org/10.1053/J.AJKD.2013.05.019>

43. Yángüez, K., Díaz, M., Morán, J., Francis, N., Navarro, A., Jaen, D., & Guerrero, E. (2022). MODELO DE ENFERMEDAD RENAL NO TRADICIONAL EN RATONES C57BL/6 SOMETIDOS A DESHIDRATACIÓN Y ALTAS TEMPERATURAS. *SCIENTIA*.