



**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE QUERÉTARO
FACULTAD DE QUÍMICA
PROGRAMA DE MAESTRÍA EN CIENCIAS QUÍMICO BIOLÓGICAS**

**“EVALUACIÓN DEL EFECTO NEFROPROTECTOR DE NANOCOMPOSITOS
DE NANOPARTÍCULAS DE ORO CON CURCUMINA EN MODELO MURINO DE
NEFROTOXICIDAD INDUCIDO POR GENTAMICINA”**

TESIS

QUE COMO PARTE DE LOS REQUISITOS PARA OBTENER EL GRADO DE
MAESTRO EN CIENCIAS QUÍMICO BIOLÓGICAS

PRESENTA:

ING. EN BIOTECNOLOGÍA MARIO ADRIÁN TIENDA VÁZQUEZ

DIRIGIDA POR:

DR. EN C. JUAN CARLOS SOLÍS SÁINZ

CO-DIRIGIDA POR:

DRA. EN C. GUADALUPE GARCÍA ALCOCER

QUERÉTARO
DICIEMBRE 2019
MÉXICO



**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE QUERÉTARO
FACULTAD DE QUÍMICA
PROGRAMA DE MAESTRÍA EN CIENCIAS QUÍMICO BIOLÓGICAS**

**“EVALUACIÓN DEL EFECTO NEFROPROTECTOR DE NANOCOMPOSITOS
DE NANOPARTÍCULAS DE ORO CON CURCUMINA EN MODELO MURINO DE
NEFROTOXICIDAD INDUCIDO POR GENTAMICINA”**

TESIS

QUE COMO PARTE DE LOS REQUISITOS PARA OBTENER EL GRADO DE
MAESTRO EN CIENCIAS QUÍMICO BIOLÓGICAS

PRESENTA:

ING. EN BIOTECNOLOGÍA MARIO ADRIÁN TIENDA VÁZQUEZ

DIRIGIDA POR:

DR. EN C. JUAN CARLOS SOLÍS SÁINZ

CO-DIRIGIDA POR:

DRA. EN C. GUADALUPE GARCÍA ALCOCER

SINODALES

DR. JUAN CARLOS SOLÍS SÁINZ

Presidente

DRA. GUADALUPE GARCÍA ALCOCER

Secretario

DRA. LAURA CRISTINA BERUMEN SEGURA

Vocal

DR. HÉCTOR PAÚL REYES POOL

Suplente

DR. ASHUTOSH SHARMA

Suplente

Centro Universitario
Diciembre 2019
Santiago de Querétaro

ÍNDICE

	Página
Resumen	10
1. Introducción	12
2. Antecedentes	13
2.1 Fisiología renal	13
2.1.1 Anhidrasa Carbónica (AC)	18
2.1.2 Hormona Antidiurética (ADH) o vasopresina	18
2.1.3 Hormona paratiroidea (PTH) y 1,25-dihidroxitamina D ₃	19
2.1.4 Sistema Renina-Angiotensina-Aldosterona (SRAA)	19
2.1.5 Receptor de Angiotensina tipo 1 y 2 (AT1 y AT2)	20
2.1.6 Gluconeogénesis y reabsorción de glucosa	21
2.1.7 Producción renal de eritropoyetina (EPO)	21
2.1.8 Receptor EPO (EPO-R)	21
2.1.9 Péptido Natriurético Auricular	21
2.2 Marcadores de lesión renal	22
2.3 Enfermedad Renal Aguda (ERA)	22
2.3.1 Mecanismos que producen nefrotoxicidad	22
2.3.2 Nefrotoxicidad de fármacos	23
2.3.3 Enfermedad Renal Crónica (ERC)	24
2.3.4 Causas	26
2.3.5 Tratamiento	27
2.4 Agentes nefroprotectores	27
2.5 Nefroprotección de curcumina	28
2.6 Curcumina (1,7-bis(4-hidroxi-3-metoxifenil)-1,6 heptadieno-3,5dieno)	29
2.7 Estructura química de la curcumina	29

2.8 Baja biodisponibilidad	30
2.9 Técnicas para mejorar biodisponibilidad	31
2.10 Biodisponibilidad de curcumina en humanos	32
2.11 Efectos adversos en humanos al consumir curcumina micronizada, en micelas y nativa	33
2.12 Diferencia de absorción de curcumina entre sexos	33
3. Justificación	34
4. Pregunta de investigación	35
5. Hipótesis	35
6. Objetivos	35
6.1 Objetivo general	35
6.2 Objetivos específicos	35
7. Materiales y métodos	36
7.1 Equipos	36
7.2 Materiales	36
7.3 Reactivos	36
7.4 Animales	37
7.5 Métodos	37
7.5.1 Síntesis de nanopartículas de oro con curcumina	37
7.5.2 Determinación de LD50 de las nanopartículas de oro con curcumina	38
7.5.3 Inducción de nefrotoxicidad con gentamicina	38
7.5.4 Biomarcadores renales séricos	38
7.5.5 Administración de curcumina	39
7.5.6 Estudios histopatológicos	40
7.6 Diseño experimental	40
7.7 Análisis estadístico	41
8. Resultados y discusión	41

9. Conclusiones

69

10. Referencias

70

Dirección General de Bibliotecas UAQ

ÍNDICE DE TABLAS

Tablas	Página
1. Clasificación en grados de la ERC según KDIGO.	25
2. Prevalencia de complicaciones habituales de la ERC.	26

ÍNDICE DE FIGURAS

Figuras	Página
1. Riñón	13
2. Organización del sistema del riñón	14
3. Anatomía de arterias y venas del riñón	15
4. Anatomía de nefrona, arterias y venas	16
5. Nefrona cortical y yuxtamedular	17
6. Vías de señalización de angiotensina	20
7. Estructuras químicas de curcumina y curcuminoides	30
8. Ruta metabólica de la curcumina vía oral	31
9. Reacciones enzimáticas para cuantificar urea sérica	39
10. Cambio de coloración por parte del agente reductor curcumina	42
11. Espectro de UV-Vis de nanopartículas de oro sintetizados por el método Turkevich	43
12. Espectro de UV-Vis de nanocompositos de nanopartículas de oro con curcumina sintetizados por el método verde.	44
13. Imagen TEM de nanopartículas de oro por el método Turkevich	45
14. Imagen TEM de nanocompositos de nanopartículas de oro con curcumina	46
15. Infrarrojo por transformadas de Fourier, la figura muestra los espectros de citrato de sodio y nanopartículas de oro por el método Turkevich	47
16. Infrarrojo por transformadas de Fourier, la figura muestra los espectros de curcumina y nanopartículas de oro por el método verde	48

17. Efecto de los niveles de urea séricos	51
18. Efecto de los niveles de creatinina séricos	55
19. Efecto en el peso corporal de las ratas	57
20. Fotomicrografía del control negativo (solución fisiológica + DMSO 5%)	58
21. Fotomicrografía del grupo de curcumina nativa	59
22. Fotomicrografía del grupo de nanopartículas de oro	60
23. Fotomicrografía del grupo del composito de nanopartículas de oro con curcumina	61
24. Fotomicrografía del grupo del control positivo	63
25. Fotomicrografía del grupo de gentamicina con curcúmina nativa	64
26. Fotomicrografía del grupo de gentamicina con nanopartículas de oro	65
27. Fotomicrografía del grupo de gentamicina con el composito de nanopartículas de oro con curcumina	67
28. Fotomicrografía del grupo de gentamicina con el composito de nanopartículas de oro con curcumina pretratado	68

ACRÓNIMOS

AC:	Anhidrasa Carbónica
ADH:	Hormona Antidiurética
AGI:	Angiotensina I
AGII:	Angiotensina II
AT-1:	Receptor de Angiotensina tipo 1
AT-2:	Receptor de Angiotensina tipo 2
ATP:	Adenosin Tri Fosfato
AUC:	Área Bajo la Curva
AuNP:	Nanopartículas de Oro
BDMC:	Bisdimetoxicurcumina
BUN:	Nitrógeno Ureico en sangre
COX-2:	Ciclooxigenasa-2
CRM:	Curcumina
CRP:	Proteína C reactiva
CUR:	Curcumina
DMC:	Dimetoxicurcumina
DMSO:	Dimetilsulfóxido
ECA:	Enzima Convertidora de Angiotensina
eNOS:	Óxido Nítrico Sintasa Endotelial
EPO:	Eritropoyetina
ER:	Enfermedad Renal
ERA:	Enfermedad Renal Aguda
ERC:	Enfermedad Renal Crónica
GFR:	Rango de Filtración Glomerular
GLDH:	Glutamato Deshidrogenasa
GM:	Gentamicina
HTA:	Hipertensión Arterial
IL-6:	Interleucina 6
iNOs:	Óxido Nítrico Sintasa Inducible
ITU:	Inflamación del Tracto Urinario
LOX-1:	Receptor de Lipoproteínas de Baja Densidad Oxidasas de tipo lectina 1
NADH:	Dinucleótido de Nicotinamida Adenina
NAG:	N-Acetil-b-D-Glucosaminidasa
Nrf-2:	Factor nuclear eritroide 2 relacionado con el factor 2
NTA:	Necrosis Tubular Aguda
PPARGC-1α:	Coactivador 1-alfa del Receptor Activado por Proliferadores de Peroxisomas gamma
TNF-α:	Factor de Necrosis Tumoral Alfa
TRIS:	Tris (hidroximetil) aminometano
UFG:	Ultrafiltrado glomerular

RESUMEN

La curcumina es el principal componente bioactivo de la *Curcuma longa*, esta biomolécula presenta propiedades antiinflamatorias, antioxidantes y nefroprotectoras. La principal desventaja de esta molécula es su baja biodisponibilidad. El objetivo de este proyecto fue evaluar el efecto nefroprotector de la curcumina por medio de la síntesis de nanopartículas de oro con curcumina, en un modelo murino de nefrotoxicidad inducido con gentamicina. El principal reto que presenta la curcumina en cuanto a su biodisponibilidad es debido a su pobre absorción, aparente rápido metabolismo, inactividad de productos finales del metabolismo, eliminación rápida, distribución limitada en tejidos y una vida media corta. Es por estas características, que se han utilizado distintas formulaciones para poder incrementar la biodisponibilidad de la curcumina, lo anterior con el fin de evaluar algunas de sus propiedades biológicas, tales como disminución de lípidos de baja densidad, disminución del tamaño de tumores cancerígenos dando resultados positivos. Una manera de poder aumentar la absorción, la biodisponibilidad y la vida media en plasma, es mediante el uso de sistemas de liberación basados en nanopartículas. En este proyecto, se evaluó el efecto nefroprotector de curcumina por nanopartículas de oro en un modelo murino con nefrotoxicidad inducido por gentamicina. Se distribuyeron ratas de manera aleatoria en 9 grupos experimentales con tratamiento durante 7 días, cada grupo contó con 6 ratas Wistar de entre 220-250 g de peso, el grupo 1 fue el control negativo (ratas sanas), al grupo 2 se administró curcumina nativa, al grupo 3 se administraron nanopartículas de oro, al grupo 4 se administraron nanopartículas de oro con curcumina, el grupo 5 fue el control positivo, al que se le indujo nefrotoxicidad con gentamicina (utilizando este modelo de nefrotoxicidad para los grupos 5, 6, 7, 8), el grupo 6 fueron ratas con nefrotoxicidad tratadas concomitantemente con curcumina nativa, grupo 7 fueron ratas con nefrotoxicidad tratadas concomitantemente con nanopartículas de oro, el grupo 8 fueron ratas con nefrotoxicidad tratadas concomitantemente con nanopartículas de oro con curcumina y, el grupo 9 fueron ratas pretratadas durante 7 días con nanopartículas de oro y curcumina, al día 8 se administraron de manera concomitante gentamicina y nanopartículas de oro con curcumina durante 7 días más. Se determinó la dosis letal 50 para la formulación de curcumina. Se midieron biomarcadores renales séricos, creatinina y BUN. Se realizó estudio histopatológico con tinción hematoxilina-eosina para detectar cambios en necrosis tubular, dilatación tubular, estructura de glomérulo, edema, infiltración de células mononucleares y formación de gotas hialinas en células tubulares.

Palabras clave: biodisponibilidad, antioxidante, antiinflamatorio, creatinina, BUN

ABSTRACT

Curcumin is the main bioactive component of *Curcuma longa*, this biomolecule has anti-inflammatory, antioxidant and nephroprotective properties. The main disadvantage of this molecule is its low bioavailability. The objective of this project was to evaluate the nephroprotective effect of curcumin by means of the synthesis of gold nanoparticles with curcumin, in a murine model of nephrotoxicity induced with gentamicin. The main challenge presented by curcumin in its bioavailability is due to its poor absorption, apparent rapid metabolism, inactivity of final metabolism products, rapid elimination, limited tissue distribution and a short half-life. It is due to these characteristics that different formulations have been used in order to increase the bioavailability of curcumin, this in order to evaluate some of its biological properties, such as decrease of low density lipids, decrease in the size of cancerous tumors giving good results. One way to increase absorption, bioavailability and half-life in plasma is through the use of nanoparticle-based release systems. In this project, the nephroprotective effect of curcumin was evaluated by treatment-improvement with gold nanoparticles in a murine model with nephrotoxicity induced by gentamicin. Rats were randomly separated in 9 experimental groups with seven days-treatment, each group had 6 Wistar rats weighting between 220-250 g, group 1 was the negative control (healthy rats), group 2 was native curcumin administered, group 3 was gold nanoparticles administered, group 4 was gold nanoparticles with curcumin administered, group 5 was the positive control rats that had gentamicin-induced nephrotoxicity gentamicin (this model of nephrotoxicity will be used for groups 5, 6, 7, 8), group 6 were rats with nephrotoxicity administered concomitantly with native curcumin, group 7 were rats with nephrotoxicity administered concomitantly with gold nanoparticles, group 8 were rats with nephrotoxicity administered concomitantly with gold nanoparticles with curcumin, the group or 9 were pretreated rats for 7 days with gold nanoparticles and curcumin, and on day 8 concomitantly gentamicin and gold nanoparticles were administered with curcumin for 7 more days. The lethal dose 50 was determined for the formulation of curcumin. Serum renal biomarkers creatinine and BUN were measured. Histopathological study with hematoxylin-eosin stain was performed to detect changes in tubular necrosis, tubular dilatation, glomerulus structure, edema, infiltration of mononuclear cells and formation of hyaline drops in tubular cells.

Key words: bioavailability, antioxidant, anti-inflammatory, creatinine, BUN.

1. INTRODUCCIÓN

La Enfermedad Renal Crónica (ERC) es una de las patologías que afecta al 10% de la población mundial (OMS, Organización Mundial de la Salud y OPS 2015). De acuerdo a datos de la Fundación Mexicana del Riñón, en México existen alrededor de 9.6 millones de personas con enfermedad renal en etapa temprana, 65 mil pacientes con tratamiento de diálisis, 25 mil niños con enfermedad renal crónica, y 75 mil enfermos renales crónicos sin una atención adecuada (FMR, 2015). El presupuesto destinado para esta patología es alto, además de que si se tratara de manera privada, al representar más del 30% del salario, la patología se cataloga como catastrófica (CSG, 2017). Este tipo de padecimiento tiene la característica de ser una patología progresiva e irreversible, además de silenciosa, es decir, no presenta síntomas hasta llegar a etapas avanzadas (OMS, Organización Mundial de la Salud y OPS 2015). En los años de 2011 a 2015 se detectaron alrededor de 12 mil fallecimientos por año, esto es aproximadamente 60 mil mexicanos en este lapso (Buendía, 2017).

Una alternativa viable para poder detener el avance crónico degenerativo de la enfermedad renal crónica es el uso de suplementos alimenticios; algunos suplementos contienen moléculas bioactivas derivadas de plantas; dichas moléculas tienen diferentes actividades biológicas en el organismo, parte de esas moléculas pueden actuar como agentes nefroprotectores debido a sus acciones antiinflamatorias y antioxidantes. La curcumina es el principal componente bioactivo de la *Curcuma longa* o mejor conocida como cúrcuma (Amalraj *et al.*, 2016). Esta biomolécula presenta propiedades antioxidantes, antiinflamatorias y nefroprotectoras (Negrete-Guzmán *et al.*, 2015). Se ha demostrado la actividad nefroprotectora de curcumina en estudios con pacientes diagnosticados con enfermedad renal crónica (Shelmadine *et al.* 2017). Sin embargo, el principal conflicto de la curcumina es su baja biodisponibilidad (Kocher *et al.*, 2016), se han hecho numerosas formulaciones para incrementar la biodisponibilidad de la curcumina (Jäger *et al.*, 2014). También se han utilizado diversos adyuvantes para poder incrementar la biodisponibilidad vía oral de la curcumina dando resultados positivos, aumentando la biodisponibilidad (Stohs *et al.*, 2017). Una manera de poder aumentar la absorción rápida, la biodisponibilidad y la vida media en plasma, es mediante el uso de sistemas de liberación basados en nanopartículas (Singh *et al.*, 2013).

El fin de este estudio es evaluar la actividad nefroprotectora de la curcumina mediante el uso de un nanocomposito de nanopartículas de oro con curcumina, con el fin de tener una contribución como alternativa viable de salud para pacientes con enfermedad renal crónica.

2. ANTECEDENTES

2.1 Fisiología renal.

Los riñones cuentan con una masa aproximadamente de 150 g cada uno. Son órganos bilaterales en forma de frijol situados en el retroperitoneo. Se le denomina hilio renal al punto de entrada de nervios renales, arterias y salida de uréteres, linfáticos y venas renales (**Figura 1**) (Alexánderson & Gamba 2014).

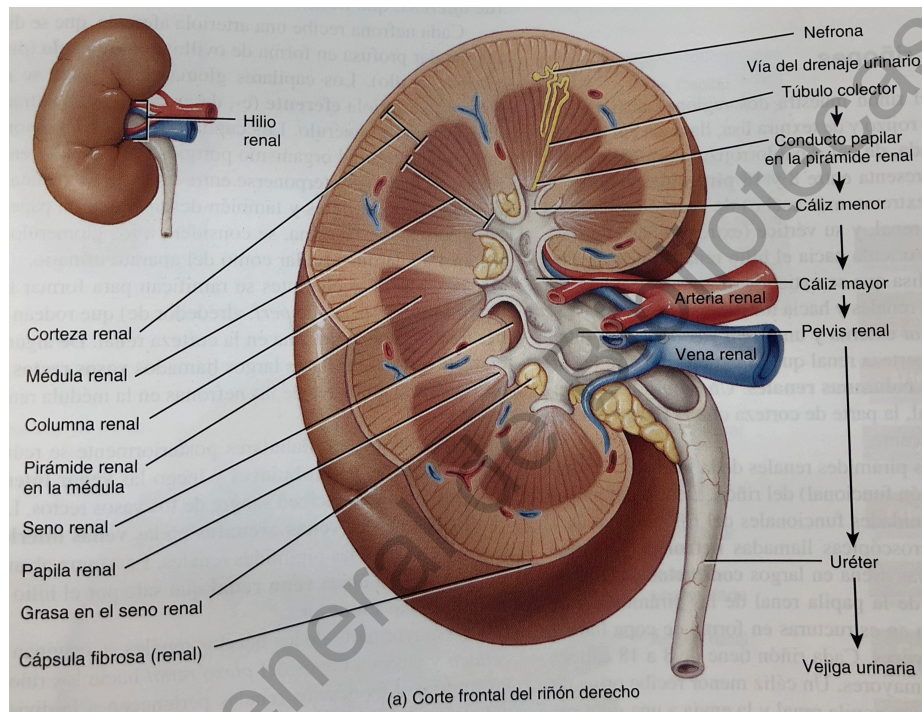


Figura 1. Riñón. Esta figura muestra las venas y arterias del hilio renal, así como componentes generales del mismo (Tortora & Derrickson, 2013).

El uréter es por donde viaja la orina transportada hasta la vejiga. El riñón cuenta con una cápsula fibrosa, la cual le sirve para proteger sus estructuras. A su vez el riñón se divide en corteza externa y la parte interna se denomina médula. La médula se divide en pirámides renales. La base de las pirámides se encuentra en el borde de la médula y corteza llamada papila, la cual se encuentra en la pelvis renal, los bordes externos de la pelvis se les denominan cálices mayores y los menores son los encargados de recolectar la orina de cada papila (**Figura 2**) (Guyton & Hall, 2016).

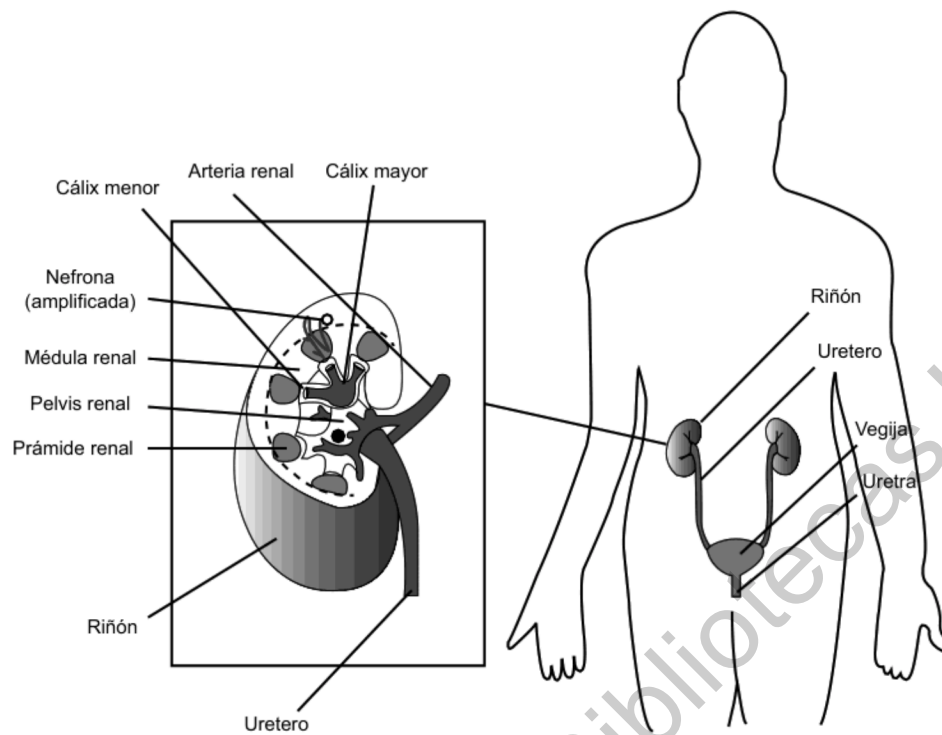


Figura 2. Organización del sistema del riñón. Esta figura muestra la ubicación en el cuerpo del riñón y las partes en general del riñón (Alexánderson & Gamba, 2014).

La sangre llega al riñón por medio de la arteria renal en el hilio, para su posterior ramificación en arterias interlobulares, arterias arciformes, arterias interlobulillares y arteriolas aferentes (**Figura 3**) (Guyton & Hall, 2016).

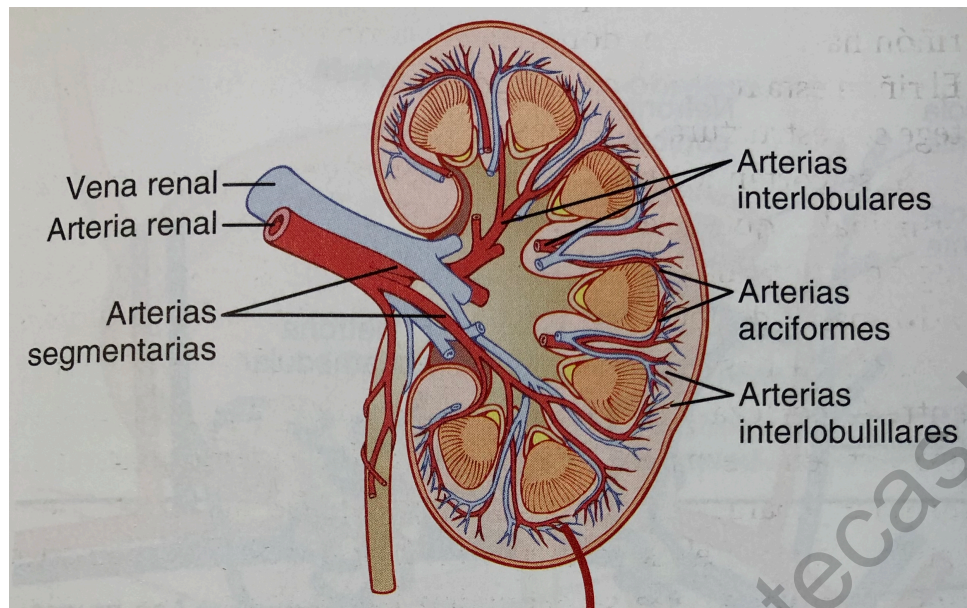


Figura 3. Anatomía de arterias y venas del riñón. Esta figura muestra la ubicación de las arterias segmentarias, arterias interlobulares, arciformes e interlobulillares (Guyton & Hall 2016).

En los capilares glomerulares es en donde ocurre la filtración y surge la arteriola eferente, la cual ayuda a mantener la alta presión dentro de los glomérulos. Los capilares peritubulares son emitidos desde la arteriola eferente, y estos capilares son los encargados de proveer al parénquima renal nutrientes y oxígeno para que pueda llevar a cabo sus funciones (**Figura 4**). Las vénulas procedentes de los capilares peritubulares al comunicarse entre sí, forman las venas interlobulares generando las venas renales, las cuales fluyen paralelas a las arterias renales. De esta manera la circulación renal ocurre en dos divisiones de capilares que contienen sangre arterial 1) Capilares peritubulares donde se realiza intercambio de productos de desecho metabólico y nutrientes 2) capilares glomerulares donde tiene lugar la filtración (Alexánderson & Gamba, 2014).

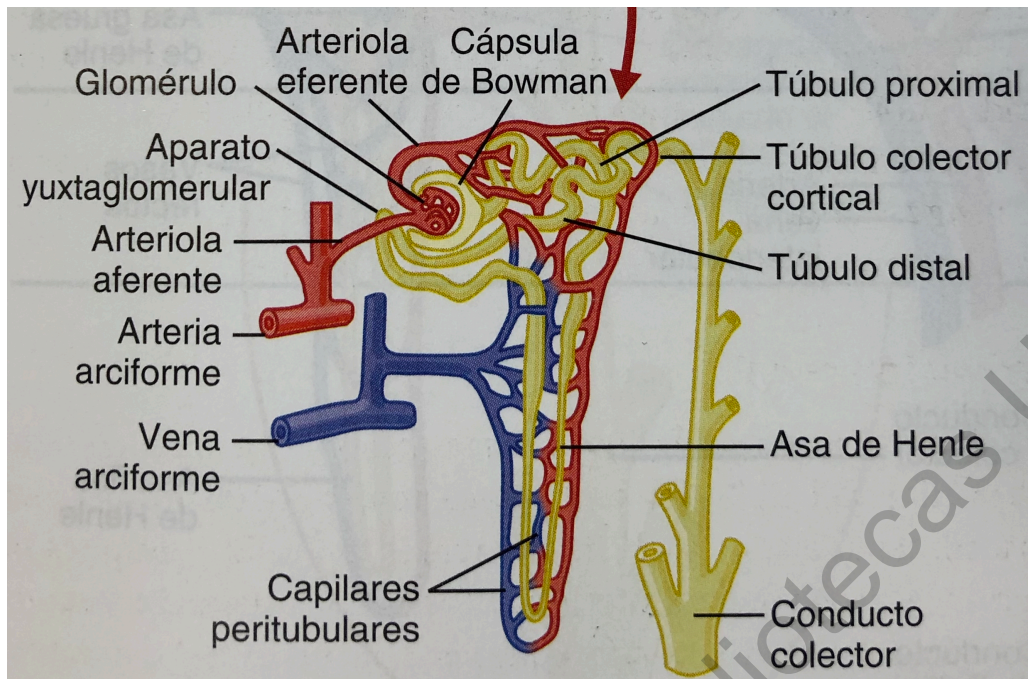


Figura 4. Anatomía de nefrona, arterias y venas. Esta figura muestra los componentes de la nefrona en general (Guyton & Hall, 2016).

El riñón cuenta con unidades funcionales llamadas nefronas de dos tipos, nefrona cortical y nefrona yuxtamedular. Se localizan dentro del parénquima renal, contienen células epiteliales que tienen funciones de reabsorción, filtración y secreción. En las nefronas corticales el glomérulo se encuentra en la superficie de la corteza renal, cuentan con asas de Henle cortas abarcando la corteza renal terminando en el límite externo de la médula externa a diferencia de las nefronas yuxtamedulares, en las cuales el glomérulo está localizado en la parte interna de la corteza, llegando a la división entre médula externa y corteza, y sus asas de Henle son largas, penetrando el parénquima renal a través de médula interna y externa hasta llegar a la papila renal (**Figura 5**) (Alexánderson & Gamba, 2014).

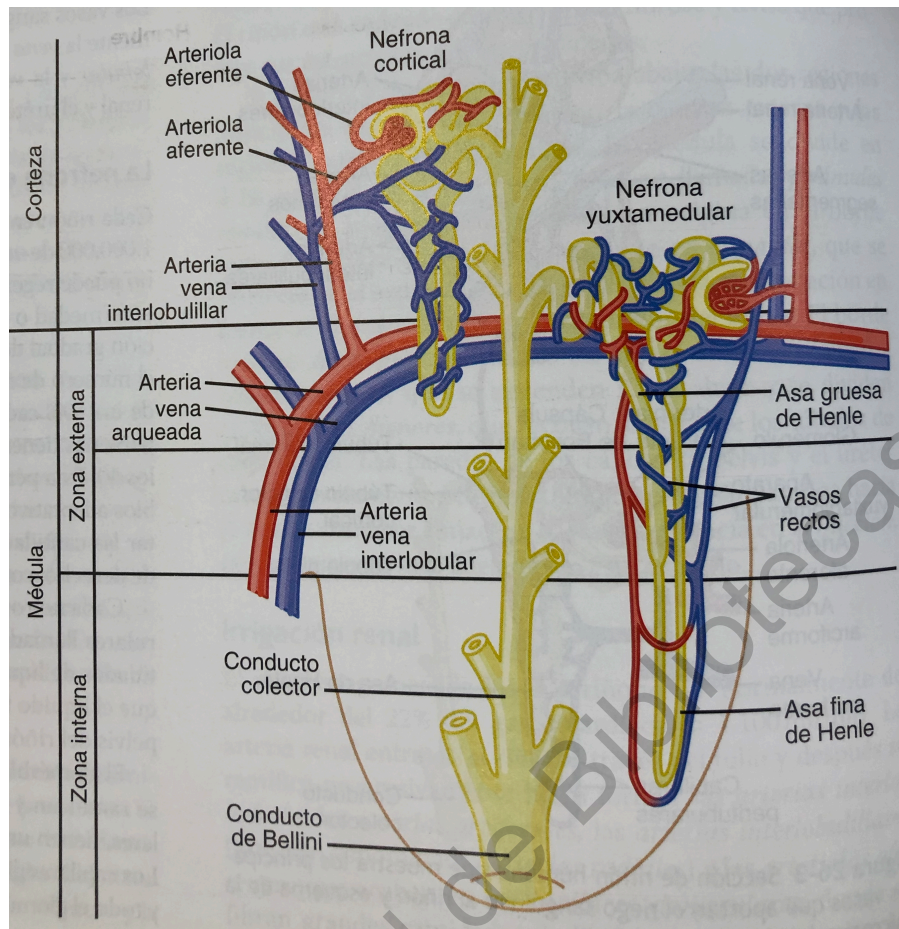


Figura 5. Nefrona cortical y yuxtamedular. La figura muestra la diferencia de distancias entre las dos tipos de nefronas que existen (Guyton & Hall, 2016).

Cada riñón cuenta con aproximadamente un millón de nefronas, las cuales no cuentan con la habilidad de regenerarse. El ser humano naturalmente, comienza a perder nefronas a una tasa de 1% anual a partir de los 40 años. Por lo tanto, una persona de 80 años tiene 40% menos de nefronas funcionales que a los 40 años. La manera de combatir esta falta de nefronas, es mediante la hiperfunción de las nefronas vivas o restantes (Guyton & Hall, 2016).

El ultra filtrado glomerular se lleva a cabo por medio de la arteriola aferente, la cual con alta presión provoca la filtración, dirigiendo las moléculas hacia la cápsula de Bowman, esto tiene un flujo volumétrico de 1100 mL/min. El líquido filtrado recolectado en la cápsula de Bowman fluye hacia el túbulo proximal situado en la corteza renal. Del túbulo proximal fluye hacia el asa de Henle descendente y ascendente; la rama ascendente tiene dos segmentos el fino y el grueso, del asa de Henle llega a la mácula densa, viaja hacia al túbulo distal y termina en el túbulo colector. En las zonas de túbulos y asa de Henle se produce una reabsorción de iones por medio de transporte activo y pasivo. En el túbulo proximal se reabsorben sodio, potasio, cloro y agua, gracias a la bomba sodio potasio ATPasa; como co-

transporte de esta bomba se absorbe glucosa; gracias a la anhidrasa carbónica se reabsorbe bicarbonato. Como parte de la secreción en túbulos proximales están algunos ácidos y bases orgánicas como urato, catecolaminas, oxalato, sales biliares, ácido para-aminohipúrico. En la rama ascendente segmento fino, las células son muy permeables al agua y moderadamente permeables a sodio y urea, por lo tanto ocurre transporte por difusión simple de agua, urea y sodio. En la rama ascendente de segmento grueso ocurre transporte activo para reabsorción de sodio, potasio, cloro, calcio, bicarbonato y magnesio. Como absorción paracelular en la rama ascendente gruesa se reabsorben cationes como magnesio, calcio, sodio y potasio, así como secreción de hidrógeno debido al mecanismo de contra-transporte sodio-hidrógeno. En la primera parte del túbulo distal ocurre reabsorción de potasio, sodio y cloro, pero es casi totalmente impermeable al agua y urea, ocurre una absorción de cloruro de sodio por parte del co-transportador sodio-cloro. La última parte del túbulo distal se compone de dos tipos de células, las principales y las células intercaladas, en las células principales se secretan iones potasio y se absorbe agua y sodio. En las células intercaladas se secretan iones hidrógeno por medio del mecanismo de transporte hidrógeno ATPasa, y gracias al resultado de la acción de la anhidrasa carbónica, por cada ion de hidrógeno secretado queda un ion de bicarbonato para su reabsorción, así como sodio y secreción de hidrógeno y potasio; la permeabilidad de la célula al agua está mediada por la concentración de la Hormona antidiurética ADH o vasopresina; lo anterior a concentraciones altas, permite por medio de permeabilidad de las células, el paso de agua. Por último, en el túbulo colector la vasopresina tiene el mismo rol que en el túbulo distal en las células intercaladas, así como el mismo mecanismo para secretar iones hidrógeno, además de ser permeable a la urea; por su parte, péptido natriurético auricular está involucrado en la inhibición de la reabsorción de sodio y agua (Guyton & Hall, 2016).

2.1.1 Anhidrasa Carbónica (AC)

La Anhidrasa Carbónica (AC) es una enzima capaz de catalizar la ionización del dióxido de carbono para formar ácido carbónico, produciendo un protón (H^+) y un anión de bicarbonato HCO_3^- . Se encuentra en la porción basolateral del túbulo contorneado proximal y distal, aumenta la absorción de HCO_3^- y agua permitiendo así, regular los niveles de pH (Monroy & Vargas, 2010).

2.1.2 Hormona Antidiurética (ADH) o vasopresina

La vasopresina es una hormona secretada por la neurohipófisis que actúa aumentando la permeabilidad de agua en células de túbulos renales. La ADH llega a receptores tipo V2 los cuales son receptores de membrana acoplados a proteínas G, aumentando la formación de cAMP, fosforilan proteínas que promueven exocitosis de vesículas que contienen un canal de agua llamado

acuaporina-2, se producen inserciones de canales de agua dando como resultado una absorción mayor de agua (Repetto, 2014).

2.1.3 Hormona paratiroidea (PTH) y 1,25-dihidroxitamina D₃

La piel contiene algunos derivados de esteroides, los cuales pertenecen a la familia de la vitamina D, el colecalciferol se forma en la piel como resultado de radiación de rayos ultravioleta de la luz solar del 7-dehidrocolecalciferol. El hígado es el responsable de convertir el colecalciferol a 25-hidroxicolecalciferol por medio de hidroxilaciones. Por último, el riñón es el responsable de otra hidroxilación dando como resultado 1,25-dihidroxicolecalciferol, esta hidroxilación ocurre en los túbulos proximales renales. La hormona paratiroidea, mediante 1,25-dihidroxicolecalciferol, tiene la función de aumentar la resorción de calcio y fosfato por medio de los osteocitos y osteoblastos, esta resorción de calcio se lleva a cabo en la parte final de los túbulos distales y en túbulo colector de los riñones. Al mismo tiempo que aumenta la resorción de calcio, también disminuye la resorción de fosfato, sodio, potasio y aminoácidos, incrementa la resorción de iones magnesio e hidrógeno (Guyton & Hall, 2016).

2.1.4 Sistema Renina-Angiotensina-Aldosterona (SRAA)

El riñón tiene la capacidad de convertir prorenina a renina; la renina escinde el dominio N-terminal del angiotensinógeno obteniendo Angiotensina I (AGI), gracias a la Enzima Convertidora de Angiotensina somática (ECA), por medio de proteólisis convierte AGI en angiotensina II (AGII). Sin embargo, ahora se conoce que existen distintas vías no dependientes de ECA para la obtención de AGII, ejemplo de ello son las vías activador del plasminógeno, tonina y catepsina. La AGII tiene actividad por medio de dos receptores, para el que AT₂ está asociado para expresarse principalmente durante el periodo fetal y se encuentra vinculado a la regeneración y diferenciación celular, mientras que la mayoría de los efectos fisiológicos se regulan por el AT₁ promoviendo la síntesis y liberación de aldosterona, dando lugar a la retención de sodio y agua (**Figura 6**) (Sparks *et al.*, 2014).

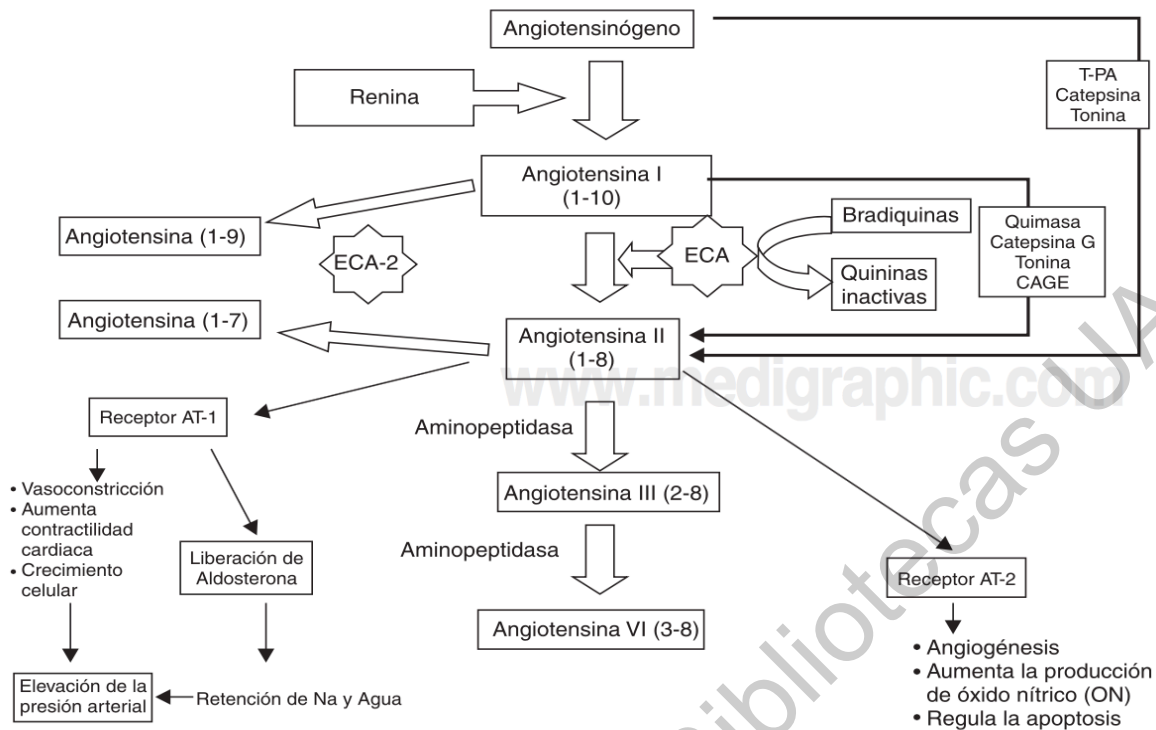


Figura 6. Vías de señalización de angiotensina. Se muestran las fases y las distintas vías de señalización por las cuales se puede generar angiotensina, fases del sistema renina-angiotensina-aldosterona (Contra *et al.*, 2008).

2.1.5 Receptor de angiotensina tipo 1 y 2 (AT-1 y AT-2)

Pertenece a la familia de proteínas G, localizado en glándula suprarrenal, riñón, músculo liso vascular y corazón. La estimulación del receptor AT-1 actúa por medio de fosfolipasa C teniendo dos vertientes, la primera es activar proteína quinasa C y la otra es MAP quinasa, origina la formación de peróxido y superóxido de hidrógeno por medio de la estimulación de NADH/NADPH. Ya estimulado AT-1 y AT-2 por medio de AGII producen diversos efectos sistémicos, pueden provocar síntesis de aldosterona, vasopresina y causar vasoconstricción. Por otra parte, puede actuar produciendo efectos locales, ya sea ejerciendo efectos paracrinos o autocrinos, estimula la formación de colágeno, músculo liso vascular, promover apoptosis, induciendo Bax o inhibiendo Bcl-2 por medio del incremento de la actividad de oxidasa NADH/NADPH por ende mayor síntesis de radicales libres. La activación del receptor AT-1 también incrementa la actividad de la Proteína Quinasa Activada por Mitógeno (MAPK) inactivando extracelularmente señales reguladoras, por ende disminuyendo la transcripción de Bcl-2. En manera indirecta la AGI activa el receptor de lipoproteínas de baja densidad oxidadas tipo lectina 1 (LOX-1), aumenta MAPK y la síntesis del Factor Nuclear KB (NF-KB). Directamente disminuye la síntesis de óxido nítrico al alterar la enzima sintetasa de óxido nítrico (eNOS). El AT-1 activa ciclooxigenasa-2 (COX-2) catalizando la

formación de prostaglandinas y de tromboxano A-2. El AT-2 compensa los efectos de AT-1 desfosforilando, teniendo efectos como antiproliferación y vasodilatación. En resumen, los efectos causados por AGII en receptor AT-1 en riñón son retención de sodio e inhibición de renina, en suprarrenales la liberación de catecolaminas y aldosterona, y por parte del AT-2 en riñón la principal función es la vasodilatación aferente (Sparks *et al.*, 2014).

2.1.6 Gluconeogénesis y reabsorción de glucosa

Los riñones cuentan con la habilidad de sintetizar glucosa a partir de aminoácidos, glutamina, alanina, lactato y glicerol, además de reabsorber glucosa por medio de transportadores como la proteína de transporte sodio-glucosa 1 y 2 (SGLT) y GLUT 1 y 2 en la parte del túbulo proximal (Segura & Ruilope, 2013).

2.1.7 Producción renal de eritropoyetina (EPO)

La EPO es producida en el intersticio renal por medio de un estímulo de hipoxia, los factores que reducen la oxigenación son el volumen sanguíneo bajo, en caso de los riñones por una baja filtración glomerular, hemoglobina baja, anemia y enfermedades pulmonares. El Factor Inducido por Hipoxia reconoce el estímulo, se transloca al núcleo de células proeritroblásticas en forma de heterodímero, con subunidades α y β y recluta a complejo co-activador transcripcional CBP/p300 (Eggold & Rankin, 2019).

2.1.8 Receptor EPO (EPO-R)

La unión de EPO induce un cambio conformacional y una proximidad de las moléculas monoméricas de EPO-R, de este modo se activan dos Janus Kinasas 2 (JAK2), se fosforilan residuos de tirosina de EPO-R dando lugar de acoplamiento para señalizar proteínas con dominios de homología SH2. Las vías por las cuales actúa EPO son STAT5, MAP quinasa, PKC, AKT, fosfatidil-inositol 3-quinasa (PI3K). Para finalizar las fosfatasas de células hematopoyéticas desfosforilan JAK2 (Eggold & Rankin, 2019).

2.1.9 Péptido Natriurético Auricular

El péptido natriurético auricular, es un péptido liberado por células específicas de las aurículas cardíacas, debido a un estímulo de distensión por aumento de volumen de plasma, esta molécula actúa por receptor guanilil ciclasa, actúan por medio de guanosina trifosfato (GTP), se incrementa la formación de cGMP siendo el responsable de la inhibición de la reabsorción de sodio y agua, dando como resultado una mayor excreción de orina, lo cual lleva a una normalización del volumen sanguíneo (Chen & Burnett, 2018).

2.2 Marcadores de lesión renal

La creatinina sérica es derivada del metabolismo muscular de creatina y fosfocreatina, y es proporcional a la masa muscular; La producción de creatinina por tejido muscular es diaria. La cistatina C es producida por todas las células nucleadas, secretada por túbulo proximal, gracias al mecanismo de transporte el cual está relacionado de manera directa con la tasa de filtración. La Interleucina-18 es una citocina proinflamatoria perteneciente a la familia de IL-1, se encuentra en fibroblastos, monocitos y células epiteliales de los túbulos proximales, por estímulos de isquemia. N-acetil-b-D-glucosaminidasa (NAG), es una enzima localizada en túbulos renales de tipo lisosomal, no se excreta por su alto peso molecular, por lo tanto si se excreta, este biomarcador sugiere daño por necrosis tubular y no por glomerulonefritis, debido a que en las enfermedades glomerulares, el análisis del aumento de enzimas NAG demostró ser por liberación de células tubulares renales y no por capilares glomerulares; el incremento de esta enzima se ha encontrado debido a exposición a varias sustancias nefrotóxicas como plomo, cadmio, antibióticos aminoglucósidos y fármacos nefrotóxicos. La Lipocalina Asociada a Gelatinasa de Neutrófilos (NGAL) ligada a granulocitos, es liberada principalmente por neutrófilos activados por infección e inflamación aguda, NGAL en riñones se libera a pocas horas de algún daño tóxico en túbulos o isquemia, por tanto es útil como biomarcador de lesión renal aguda (*Espinosa et al.*, 2013).

2.3. Enfermedad Renal Aguda

La Enfermedad Renal Aguda (ERA) es la disminución de la eliminación de productos nitrogenados de desecho por parte de los riñones, que se instaura en horas a días, durante un periodo máximo de 3 meses. Una de las causas de la reducción de la eliminación de productos nitrogenados es la hipoperfusión renal prolongada, lo que lleva a un daño hipóxico y oxidativo en las células tubulares renales, perdiendo polaridad, conduciendo a necrosis y apoptosis celular. Las células más afectadas son las del túbulo proximal y túbulo colector. Esta lesión tarda en reinstaurar la correcta perfusión renal de días a semanas, también conocida como Necrosis Tubular Aguda (NTA). La ERA puede ocasionar oliguria, anuria o diuresis conservada. En el caso de la diuresis conservada se refiere a una orina poco concentrada en productos nitrogenados (Andreu Periz & Force Sanmartín, 2001; Gaínza De Los Ríos, 2012; Sellarés, 2012).

2.3.1 Mecanismos que producen nefrotoxicidad.

Existen distintos mecanismos mediante los cuales se puede producir nefrotoxicidad: uno de ellos es la interferencia en la perfusión renal, que disminuye el flujo plasmático renal originando Enfermedad Renal Aguda (ERA). Esta

enfermedad renal aguda es causada principalmente por algunos fármacos inhibidores de prostaglandinas (anti-inflamatorios no esteroideos) o inhibidores de la enzima de conversión de la angiotensina. Se puede afectar directamente a las células renales alterando la permeabilidad o actividad de sus bombas de transporte por citotoxicidad. Existen sustancias que por sí mismas causan nefrotoxicidad, por ejemplo algunos tóxicos vegetales como el ricino y la *amanita phalloides*, otros tóxicos orgánicos como el tetracloruro de carbono y el pesticida paraquat. Dentro de los tóxicos inorgánicos encontramos al plomo, mercurio, cadmio, sales de oro, cobre y litio (Kim & Moon, 2012).

2.3.2 Nefrotoxicidad de fármacos.

Entre los fármacos que inducen nefrotoxicidad se encuentran antimicrobianos/antibióticos, analgésicos, antiinflamatorios/analgésicos y antineoplásicos. En este trabajo se utilizará la gentamicina que pertenece al grupo de los antibióticos (Kim & Moon, 2012). La gentamicina es un antibiótico perteneciente a la familia de los aminoglucósidos. Este antibiótico tiene como blanco bactericida, bacterias gram negativas. Este tipo de aminoglucósidos presentan una estructura heterocíclica, teniendo en su estructura dos o más aminoazúcares, los cuales se unen por enlaces glucosídicos a un anillo aminociclitol. Estos antibióticos poseen una escasa absorción oral, por lo que la administración intravenosa es la más utilizada. Los aminoglucósidos atraviesan muy poco las membranas biológicas que no cuentan con mecanismos de transporte, esto por su tamaño y carga polieciónica. Los aminoglucósidos no son metabolizados por el ser humano, por lo que son excretados sin alteraciones por los riñones. Sin embargo sufren una filtración toxicológicamente importante, se reabsorbe por las células de los túbulos, debido a que estas células cuentan con mecanismos de transporte. Cuando se reabsorben, estos antibióticos se unen a los fosfolípidos con carga negativa ubicados en el ribete del cepillo de las membranas de las células de túbulos renales, lo cual posteriormente se internalizará por medio de pinocitosis. Dentro de la sintomatología inicial ocasionada por el daño renal causado por este tipo de antibióticos, está la presencia de proteinuria, incremento en la excreción urinaria de algunas enzimas tubulares como alanina aminopeptidasa, -D-glucosamina, fosfatasa alcalina y Zinc y Cobre, así como el aumento en la excreción de 2-microglobulina. Posterior a sintomatología inicial, aparecen algunos agregados en el sedimento urinario, tal es el caso de cilindruria y leucocituria. Los efectos de la gentamicina son la inducción de apoptosis, necrosis, estrés oxidativo, un aumento en la infiltración de monocitos / macrófagos y elevación de endotelina I. Fisiológicamente se caracteriza por aumentos en los niveles de creatinina sérica, nitrógeno ureico en sangre (BUN), necrosis tubular y congestión glomerular, así como disminución en la tasa de filtración glomerular. Morfológicamente se caracteriza por edema epitelial,

descamación epitelial del túbulo proximal, necrosis tubular e hipertrofia glomerular. La gentamicina aumenta la producción de especies reactivas de oxígeno (ROS), además de reducir la actividad de enzimas antioxidantes renales tales como catalasa (CAT), glutatión peroxidasa (GPx), superóxido dismutasa (SOD) y glutatión (Apaydin Yildirim *et al.*, 2017).

2.3.3 Enfermedad Renal Crónica

La ERC de acuerdo a la Kidney Disease: Improving Global Outcomes (KDIGO) se define como alteraciones de la función o estructura renal, presentes durante más de 3 meses, con implicaciones para la salud (Gorostidi *et al.* 2017; Kidney Disease: Improving Global Outcomes (KDIGO) 2017), esto último se agrega debido a que pueden existir alteraciones estructurales o funcionales que no conlleven a la ERC como por ejemplo un tumor renal (Gorostidi *et al.* 2017). La clasificación de acuerdo a las guías KDIGO de la ERC se basa en la causa, tasa de filtración glomerular (GFR por sus siglas en inglés) que va desde G1 a G5 y albuminuria teniendo 3 clasificaciones de A1 a A3 (**Tabla 3**) (Kidney Disease: Improving Global Outcomes (KDIGO) 2017).

Tabla 3. Clasificación en grados de la ERC según guías KDIGO.

FILTRADO GLOMERULAR			ALBUMINURIA		
			CATEGORÍAS, DESCRIPCIÓN Y RANGOS		
			A1	A2	A3
			NORMAL A LEVEMENTE ELEVADA	MODERADAMENTE ELEVADA	SEVERAMENTE ELEVADA
CATEGORÍAS, DESCRIPCIÓN Y RANGOS [mL/min/1.73 m ²]			<30mg/g	30-300 mg/g	>300 mg/g
			<3 mg/mmol	3-30mg/mmol	>30 mg/mmol
G1	NORMAL O ELEVADO	>90			
G2	LIGERAMENTE DISMINUIDO	60-89			
G3a	LIGERA A MODERADAMENTE DISMINUIDO	45-59			
G3b	MODERADA O GRAVEMENTE DISMINUIDO	30-44			
G4	GRAVEMENTE DISMINUIDO	15-29			
G5	FALLA RENAL	<15			

Verde: no hay enfermedad renal si no existen otros marcadores definitorios; Amarillo: riesgo moderado; Naranja: riesgo alto; rojo: riesgo muy alto. La albuminuria se expresa como cociente [albúmina/creatinina]

Los criterios para poder tener un diagnóstico de ERC son la reducción del filtrado glomerular menor a 60/mL/min/1.73m² lo cual se ubicaría al paciente en un estado G3a de acuerdo a la tabla de clasificación en grados de la ERC (**Tabla 3**). Existen además marcadores de daño renal tales como: alteraciones electrolíticas u otras alteraciones de origen tubular, alteraciones en el sedimento urinario, albuminuria elevada, alteraciones estructurales histológicas, trasplante renal o alteraciones estructurales en pruebas de imagen. Para esto último se emplean ecografía, eco-

doppler, urografía intravenosa, angiografía digital y biopsia renal (Sellarés 2012). Los criterios para tener un diagnóstico de ERC con base en la causa, tienen que tomar en cuenta la presencia o ausencia de alguna enfermedad o trastorno sistémico que tenga cierto potencial de afectación renal. Asimismo, se puede emplear alguna alteración anatómico-patológica ya sea observada o presunta, como dos principales causas sin dejar a un lado los antecedentes heredofamiliares, factores ambientales, si estuvo en contacto con metales que puedan causar daño renal, así como plomo o mercurio, pruebas de imagen y la ingesta de fármacos nefrotóxicos (Gorostidi *et al.* 2017).

2.3.4 Causas

La ERC se encuentra relacionada a enfermedades de alta prevalencia tales como diabetes, hipertensión arterial (HTA) y envejecimiento. Las complicaciones más comunes y su prevalencia de acuerdo a los rangos de filtración glomerular se encuentran expuestos en la **Tabla 4** (Gorostidi *et al.* 2017).

Tabla 4. Prevalencia de complicaciones habituales de la ERC.

COMPLICACIÓN	FILTRADO GLOMERULAR (mL/min/SC [m2])				
	>90	60-89	45-59	30-44	<30
HTA (PAS >140 mmHg y PAD >90mmHg o uso de medicación antihipertensiva)	18.3	41	71.8	78.3	82.1
Anemia (Hb <12 g/dL en mujeres y < 13,5 g/dL en varones)	4	4.7	12.3	22.7	51.5
Hiperparatiroidismo (paratohormona intacta > 70 pg/mL (≥ 7,4 pmol/L))	5.5	9.4	23	44	72.5
Hiperfosfatemia (fósforo sérico > 4,5 mg/dL (> 1,5 mmol/L))	7.2	7.4	9.2	9.3	23
Déficit de Vitamina D (niveles séricos < 15 ng/mL (< 37 nmol/l))	14.1	9.1	10.7	10.7	27.2
Acidosis (bicarbonato sérico < 21 mEq/L)	11.2	8.4	9.4	18.1	31.5
Hipoalbuminemia (albúmina sérica < 3,5 g/dL)	1	1.3	2.8	9	7.5

Donde: HTA, hipertensión arterial; PAD, presión arterial diastólica; PAS, presión arterial sistólica; Hb, hemoglobina. Datos expresados en porcentaje (Gorostidi *et al.* 2017).

2.3.5 Tratamiento

El tratamiento de la ERC varía de acuerdo a la etapa en la que el paciente se encuentra. En la mayoría de los casos durante las primeras 4 fases (**Tabla 3**), el tratamiento del paciente no es invasivo y se basa en dietas y fármacos que no contengan propiedades nefrotóxicas, mientras que los pacientes posicionados en la última fase requieren de un tratamiento invasivo como diálisis peritoneal, hemodiálisis o trasplante, sin dejar a un lado la dieta especializada para pacientes renales (Espinosa 2016).

La progresión de la ERC se establece cuando el paciente pasa de una fase a otra, por ejemplo pasar de una fase G2 a G3a o por el descenso constante de filtración glomerular mayor o igual a $5\text{mL}/\text{min}/1.73\text{m}^2$ anual, es preciso resaltar que si presenta alguna fluctuación del filtrado glomerular, no indica por definitivo una progresión. En caso de que alguno de los factores se presente, es necesario descartar factores que hayan podido beneficiar a dicha progresión frente a agudización, como el uso de antiinflamatorios no esteroideos, fármacos bloqueantes del sistema renina-angiotensina en ciertas condiciones hemodinámicas, uropatía obstructiva, antibióticos nefrotóxicos, depleción de volumen, situaciones de inestabilidad hemodinámica (Gorostidi *et al.* 2017).

2.4 Agentes Nefroprotectores

Debido a la alta prevalencia de ERC, es preciso pensar en una alternativa para poder frenar el desarrollo de esta patología. En el mundo existen distintas moléculas bioactivas las cuales ofrecen nefroprotección, con el fin de poder detener el desarrollo crónico degenerativo de la ERC, muchas de las cuales podemos encontrarlas en plantas. Algunas de las plantas que han demostrado efectos nefroprotectores son *Sida cordata*, *Plumbago zeylanica*, *Rudgea viburnoides*, *Pistacia atlantica*, *Cuscuta reflexa*. Estudios previos en ratas han demostrado que han podido disminuir marcadores renales ya comentados anteriormente como BUN, creatinina y albuminuria, y en común actuar como antioxidantes y antiinflamatorios, impidiendo las especies reactivas de oxígeno, evitando la muerte celular y por ende evitar glomerulonefritis y necrosis tubular (Alamgeer, *et al.* 2017; Heidarian, *et al.* 2017; Moreira Galdino, *et al.* 2017; Rajakrishnan, *et al.* 2017; Shah, *et al.* 2017).

2.5 Nefroprotección de Curcumina

En un modelo de rata en el cual se indujo nefrotoxicidad por adenina, se probó el efecto de la curcumina como agente nefroprotector midiendo algunos biomarcadores renales. La curcumina en contraste con el agente nefrotóxico, mostró mejorar los resultados de biomarcadores renales, provocando una reducción de los niveles de urea, creatinina, y fósforo así como el aumento de los niveles de calcio. En cuestiones de capacidad antioxidante demostró un aumento de los niveles de superóxido dismutasa y glutatión total. En citoquinas produjo un descenso de adiponectina, cistatina C, TNF- α y IL-6. En histopatología logró reducir la necrosis tubular, infiltración de células mononucleares y formación de gotas hialinas en células tubulares (Badreldin. *et al.* 2017).

En un modelo de rata al cual se indujo nefrotoxicidad por gentamicina y se le administró curcumina, lograron cuantificar aumento del factor de transcripción Nrf-2, el cual regula la expresión de genes de enzimas destoxificantes y antioxidantes, incremento de PPARC-1 α el cual es un potente inductor de la biogénesis mitocondrial, disminución de creatinina en plasma y BUN, mostró una conservación de la estructura de las mitocondrias en túbulo proximal, mantiene homeostasis redox de mitocondria, protege los complejos respiratorios (I y IV) mitocondriales, mitiga la liberación de calcio por medio de la permeabilidad de la membrana mitocondrial, la apertura de poros en la membrana mitocondrial se produce por un estrés oxidativo, causado por especies reactivas de oxígeno (Negrette-Guzmán *et al.* 2015).

En un modelo de rata en el cual se indujo nefrotoxicidad con tetracloruro administrando curcumina como concomitante se logró suprimir el incremento de creatinina y BUN causado por tetracloruro, en histopatología no presentó infiltración de células inflamatorias, túbulo y glomérulo se mantuvieron normales, disminuyó el número de células apoptóticas, elevó el estado antioxidante total, disminuyó el estado oxidante total, bajó niveles del metabolito malondialdehído (MDA), derivado de la cascada de la peroxidación lipídica de ácidos grasos, que es un marcador de la degradación oxidativa de la membrana celular (Hismiogullari *et al.* 2015).

En un modelo de rata en el cual se produjo nefrotoxicidad con paracetamol, la curcumina aumentó el índice relativo de peso del riñón, disminuyó niveles de alanina-aminotransferasa, aspartato aminotransferasa, fosfatasa alcalina, bilirrubina, urea y creatinina, disminuyó niveles de MDA, aumentó niveles de glutatión reductasa (GSH) y catalasa CAT, en cuanto a histología la curcumina logró mantener el glomérulo sano (El-Maddawy & El-Sayed 2018).

2.6 Curcumina (1,7-bis(4-hidroxi-3-metoxifenil)-1,6-heptadieno-3,5-dieno)

La cúrcuma es una planta perteneciente a la familia de jengibre, es una planta perenne herbácea rizomatosa. La curcumina (1,7-bis(4-hidroxi-3-metoxifenil)-1,6-heptadieno-3,5-diona) es el principal compuesto bioactivo de la cúrcuma, también llamado diferuloilmetano, es un polifenol orgánico encontrado en el rizoma de la cúrcuma (Hewlings & Kalman 2017).

La *Curcuma longa* Linn (cúrcuma) es una planta perteneciente al sureste de Asia, India e Indonesia. Pertenece a la familia *Zingiberaceae*. Es cultivada principalmente en regiones tropicales y subtropicales. Tradicionalmente en la India y China se ha utilizado la cúrcuma para fines medicinales, esta planta es muy popular en el ámbito de las hierbas medicinales (Amalraj, Jude, *et al.* 2017; Amalraj, Pius, *et al.* 2017; Gopi *et al.* 2017). La curcumina se utiliza en la industria alimenticia como colorante (E100) y se encuentra presente en algunas especias tales como el curry (Kocher *et al.* 2015). En el ámbito farmacológico, la curcumina cuenta con una gran variedad de actividades biológicas, dentro de sus funciones biológicas, la curcumina siendo un antioxidante polifenólico presenta actividad anti-inflamatoria (Jäger *et al.* 2014).

Los curcuminoides han sido aprobados por la US Food and Drug Administration (FDA) y clasificados como “Generalmente Reconocido como Seguro” (GRAS por sus siglas en inglés), mostrando perfiles de tolerabilidad y seguridad aceptables mediante ensayos clínicos, incluso utilizando dosis en el rango de 4000-8000 mg/día hasta dosis de 12000 mg/día en concentración de 95% de curcuminoides, demetoxicurcumina, bisdemetoxicurcumina y curcumina (Hewlings & Kalman 2017).

La curcumina actúa inhibiendo la expresión de la enzima ciclooxigenasa 2, en parte a través de la interferencia con la activación del factor de transcripción NfκB (Marczylo *et al.* 2007). La curcumina cuenta con un efecto pleiotrópico, esto es que modula y regula objetivos múltiples, como inhibir factores de transcripción proinflamatorios como el activador de la transcripción 3, NfκB y la Wnt/β catenina. Activa el receptor activado por el proliferador de peroxisoma y la vía de señalización Nrf2, dando como resultado una regulación negativa de interleucina-6, resistina, leptina y proteína quimiotáctica monocítica, además de favorecer la adiponectina. Este efecto pleiotrópico justifica la amplia gama de efectos biológicos que se le atribuyen (Stohs *et al.* 2018).

2.7 Estructura química de la curcumina

La cúrcuma cuenta con distintas estructuras químicas, todas comparten 2 anillos metoxibenceno con una cadena insaturada, la curcumina es un tautómero, presentando forma keto y forma enol (Amalraj, Pius, *et al.* 2017). La curcumina

presenta fitoquímicos lipofílicos llamados curcuminoides principalmente de dos tipos, dimetoxicurcumina (DMC) y bisdimetoxicurcumina (BDMC) (Kocher *et al.* 2016). La cúrcuma también contiene aceites esenciales compuestos principalmente por sesquiterpenos, los cuales proveen aroma a esta especia, los aceites son α , β y Ar-turmerones (Figura 7) (Amalraj, Pius, *et al.* 2017).

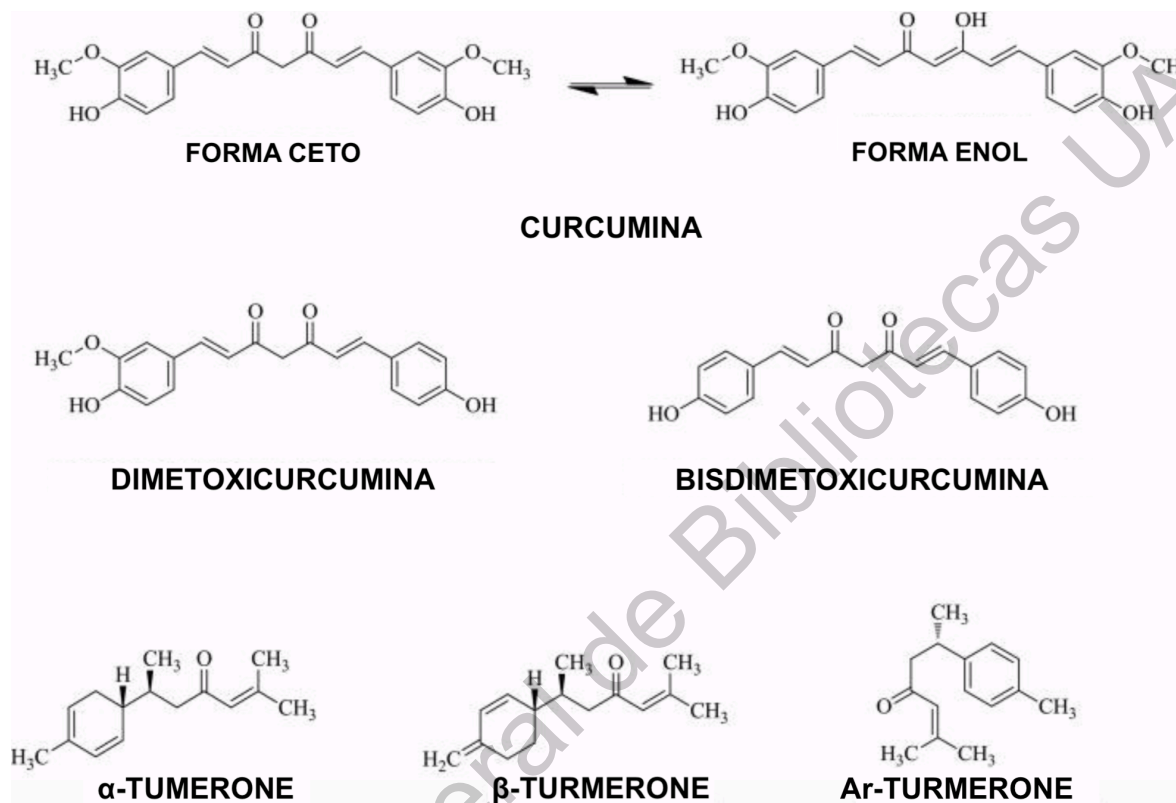


Figura 7. Estructuras químicas de curcumina y curcuminoides. La figura muestra las estructuras importantes presentes en la cúrcuma (Amalraj, Pius, *et al.* 2017).

2.8 Baja biodisponibilidad

La curcumina cuenta con una gran variedad de funciones biológicas, sin embargo, presenta baja biodisponibilidad, debido a los grupos aromáticos que le dan una hidrofobicidad alta, sus estructuras tautoméricas influyen en la polaridad y la hidrofobicidad, volviéndolo poco soluble en agua (Gopi *et al.* 2017). Cuando se ingiere curcumina vía oral, su metabolismo y eliminación sistémica es rápida. Las partes que se absorben, metabolitos solubles en agua, glucuronidos y sulfatos. Ya reducidos los metabolitos de la curcumina, se conjugan con monoglucurónido por beta-glucunidasa, también el monosulfato por sulfatasa y una mezcla de sulfato-glucuronósido dando como resultado glucuronósido de curcumina (Figura 8) (Jäger *et al.* 2014).

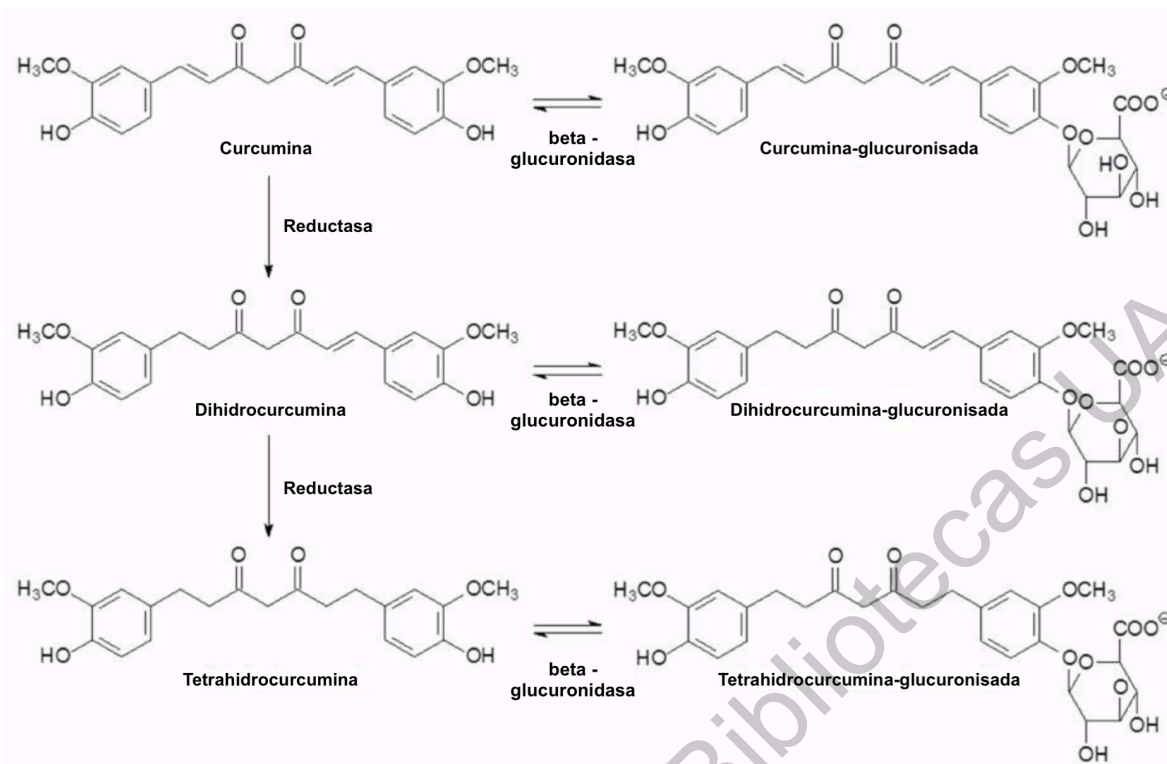


Figura 8. Ruta metabólica de la curcumina vía oral. Descripción de la vía metabólica de la curcumina mostrando las enzimas que participan (Jäger *et al.* 2014).

La biodisponibilidad de los curcuminoides también depende de la actividad de las proteínas de transporte en la membrana luminal de enterocitos, encargados de mover los conjugados en la luz intestinal, la mayor parte se elimina en heces sin cambio alguno (Kocher *et al.* 2015).

2.9 Técnicas para mejorar biodisponibilidad

Debido a la baja biodisponibilidad atribuida a su hidrofobicidad, se han realizado numerosos estudios en los cuales se han podido incrementar la biodisponibilidad de la curcumina utilizando distintos adyuvantes (Antony *et al.* 2009). Se han probado distintos tipos de adyuvantes que han tenido resultados favorables, tal es el caso de la fibra dietética soluble en la cual se le impregnó curcumina, fue una fibra de galactomanano soluble en fibra formadora y no digerible extensa, derivada de la fenogreco de especias, fue probada en humanos y en ratas, dando resultados positivos, obteniendo hasta 20 veces más absorción en comparación con la curcumina nativa (Anand *et al.* 2007; Krishnakumar *et al.* 2012).

En un estudio realizado en humanos sanos, se les administró una formulación lipídica (LF) de curcumina (CRM) (CRM-LF). CRM-LF consistía en, CRM (6.17% p / p), Gelucire® 44/14 (16.46% p / p), Labrasol (5.76% p / p), Vitamina E TPGS

(3.29% p / p), PEG 400 (P / p), etanol (8.23% p / p), ácido cítrico anhidro (2.88% p / p) y HPMC E5 (1.64% p / p), no midieron biodisponibilidad, sin embargo, vieron que hubo una mayor acumulación en tejidos en lugar de plasma, lo cual señala que la velocidad de excreción de curcumina baja por lo tanto se mantiene más tiempo en el cuerpo (Pawar *et al.* 2012).

En otro estudio realizado en humanos se comparó la curcumina micronizada contra la curcumina micelar dando resultados positivos para los dos casos, sin embargo, la curcumina micronizada fue 14 veces mejor, en comparación con la curcumina micelar que fue 277 veces más biodisponible en comparación con la curcumina nativa (Schiborr *et al.* 2014).

En un estudio en el cual se comparó la reformulación de curcumina micelar la cual fue diseñada por AQUANOVA, se obtuvo un resultado de hasta 88 veces más biodisponibilidad en comparación con la curcumina nativa, siendo consistente con estudios previos en el cual se utilizan micelas de curcumina (Kocher *et al.* 2016).

En otro estudio realizado en humanos se utilizó una formulación micromicelar de gota líquida de curcumina, dando como resultado de 522 veces mejor en contraste de la curcumina nativa, la cual sigue siendo congruente con estudios previos (Stohs *et al.* 2018).

2.10 Biodisponibilidad de curcumina en humanos

La curcumina presenta un gran número de actividades benéficas biológicas. Presenta mecanismos antioxidantes, antiinflamatorios, proapoptóticos, inmunomoduladores y antiangiogénicos así como prevención de disfunción mitocondrial. Sin embargo, debido a su baja biodisponibilidad, es difícil aplicar esta molécula en el ámbito clínico. La biotransformación de la curcumina ocurre predominantemente en el hígado, pasando de curcumina a dihidrocurcumina y tetrahydrocurcumina, dichos metabolitos pasan a ser conjugados monoglucoronidados. Las concentraciones en sangre de curcumina son bajas y distribución de tejido es limitada después de administración oral de la misma, debido a su rápido recambio metabólico en pared intestinal e hígado. Las concentraciones máximas en plasma de curcumina se mantienen bajas, incluso cuando se administran dosis de hasta 10g a 12g de curcumina, manteniendo rangos menores de 160nmol/L (Schiborr *et al.* 2014).

En un estudio el cual compara formulaciones de dos productos, la formulación es un producto llamado "Curcu-Gel ultra" la cual es una formulación volátil de aceite y fosfolípidos y la segunda formulación es de un producto llamado "Doctor's Best Curcumin Phytosome". En sus resultados reportan una mayor absorción por parte de la formulación de matriz de cúrcuma totalmente natural de Aurea Biolabs, en comparación del producto Curcu Gel Ultra tuvo una absorción 6 veces mayor y en

comparación con el producto Doctor's Best Curcumin Phytosome tuvo una absorción 5 veces mayor (Gopi *et al.* 2017).

2.11 Efectos adversos en humanos al consumir curcumina micronizada, en micelas y nativa

En estudios efectuados en pacientes sanos se registraron algunos efectos adversos al administrar curcumina micronizada, nativa y curcumina en micelas. Algunos de los voluntarios presentaron efectos secundarios al ingerir la curcumina nativa, tales como: flatulencia (1 hombre), dolor de estómago (1 hombre), heces amarillentas (1 hombre). Para la curcumina micronizada: diarrea amarillenta (1 mujer), heces amarillentas (1 hombre y 1 mujer), aumento de volumen de heces (1 mujer). Para curcumina en micelas: náuseas leves (7 mujeres y 3 hombres), vómitos (1 mujer), fatiga leve (1 mujer), dolor de cabeza leve (1 mujer), dolor estómago leve (1 mujer), regurgitación incidental (1 mujer) (Schiborr *et al.* 2014).

2.12 Diferencia de absorción de curcumina entre sexos

Las mujeres presentan mayor cantidad de curcumina en plasma que los hombres, esto se le adjudica a la mayor actividad y expresión de la glicoproteína P (MDR1, multi-resistant protein) del transportador de eflujo hepático e isoformas de la glucuronosiltransferasas y sulfotransferasas involucradas en la biotransformación de curcumina. Otros factores son la grasa corporal, volumen sanguíneo y peso corporal, en mujeres estos parámetros son menores, por lo tanto hay menor volumen de distribución (Moreillon *et al.* 2013; Schiborr *et al.* 2014).

3. JUSTIFICACIÓN

El presente trabajo se justifica con la finalidad de aportar nuevos datos de investigación respecto a la enfermedad renal crónica y el uso de biomoléculas derivadas de plantas como tratamiento complementario al tratamiento médico, lo anterior con base en conocimiento preexistente, el fin de este proyecto es el crear un tratamiento que pueda detener el avance crónico degenerativo de la enfermedad. Así, denotando las cifras más contundentes dentro de la documentación bibliográfica, se expone que es una patología presente en el 10 % de la población mundial (OMS, Organización Mundial de la Salud y OPS 2015). En este mismo escenario se figura que la mitad de enfermos crónicos dentro del estimado de 140,000 pacientes con enfermedad crónica avanzada, no tienen acceso a un tratamiento adecuado (FMR 2015). Esta atención propicia estar directamente relacionada con el nivel socioeconómico de los pacientes, es decir, las posibilidades y condiciones de los mismos son un impedimento para recibir las atenciones adecuadas, esto es debido a que en la Carta de Derechos y Obligaciones del Seguro Popular del 2017 para el estado de Querétaro, no cubre la enfermedad renal crónica. En consecuencia, todos aquellos ciudadanos de México de bajos recursos que requieren atención médica, la adquieren a costa de la pérdida de su patrimonio. Esta patología por tanto, se ubica catalogada como enfermedad catastrófica, representando más de un tercio del salario que reciben las personas (Consejo Salubridad General 2017). Agregando aún más desventaja, es un padecimiento progresivo, irreversible y silencioso (OMS, Organización Mundial de la Salud y OPS 2015). Así también, la justificación de esta investigación es brindar una utilidad al sector social afectado con el fin de construir conocimiento y contribuir de forma positiva a la afectación del problema latente por medio de una alternativa viable, para poder detener el avance crónico degenerativo de la enfermedad renal crónica. La solución se sustenta en el incremento de la actividad nefroprotectora de la curcumina, por medio del incremento de su biodisponibilidad, mediante la utilización de nanopartículas de oro con curcumina siendo en un futuro próximo, de beneficio para el sector salud y la sociedad civil.

4. PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN

¿El efecto nefroprotector de la curcumina se incrementará mediante el uso de nanocompositos de nanopartículas de oro con curcumina en un modelo murino de nefrotoxicidad inducido por gentamicina?

5. HIPÓTESIS

El efecto nefroprotector de la curcumina se incrementará significativamente mediante el uso de nanocompositos de nanopartículas de oro con curcumina, en un modelo murino de nefrotoxicidad inducido por gentamicina.

6. OBJETIVOS

6.1 Objetivo General

Evaluar la actividad nefroprotectora de la curcumina acoplada a nanopartículas de oro, en un modelo murino de nefrotoxicidad inducido por gentamicina.

6.2 Objetivos específicos

6.2.1 Sintetizar, estandarizar y caracterizar nanopartículas de oro con curcumina.

6.2.2 Determinar la Dosis Letal 50 del nanocomposito de nanopartículas de oro con curcumina.

6.2.3 Implementar modelo de nefrotoxicidad con gentamicina en modelo murino.

6.2.4 Evaluar el efecto nefroprotector ejercido por el composito de partículas de oro con curcumina mediante la medición de biomarcadores de función renal séricos.

6.2.5 Evaluar el efecto nefroprotector ejercido por el composito de partículas de oro con curcumina a nivel tisular mediante estudios de histopatología.

7. MATERIALES Y MÉTODOS

7.1 Equipos

- Espectrofotómetro nanodrop ND-1000.
- Beckman Coulter Microfuge 22R Centrifuger.
- Microscopio confocal Zeiss LSM 700.

7.2 Material

- Termómetro.
- Aguja BD Vacutainer Push Button.
- Tubos BD Microtainer con K2EDTA.
- Jeringas Plastipak.
- Bisturíes.

7.3 Reactivos

- Curcumina Sigma-Aldrich
- Carboximetilcelulosa Acofarma
- Ácido tetracloroáurico Sigma-Aldrich
- Citrato de sodio Foodchem
- Kit para creatinina Labassay
- Kit para BUN Linear Chemicals
- Hematoxilina y Eosina PanReac AppliChem

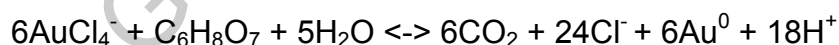
7.4 Animales

Para el manejo, almacenamiento y eutanasia de los animales se realizó con a las apego a las especificaciones de la Norma Oficial Mexicana: NOM-062-ZOO-1999, “Especificaciones técnicas para la producción, cuidado y uso de los animales de laboratorio” con el número de dictamen de bioética CBQ/029. Se utilizaron ratas wistar macho, obtenidas del instituto de Neurobiología de la UNAM Juriquilla, con un peso inicial entre 280-320g. Iluminación con ciclos de luz/oscuridad de 12h cada uno. Los animales tuvieron agua y comida *ad libitum*. La temperatura fue controlada a $23 \pm 2^\circ$ C. Los animales se mantuvieron alojados en bioterio (UNAM, Juriquilla, Querétaro, Qro). Las dimensiones de los cuartos de bioterio fueron de 5 x 5 m². Se resguardaron 3 ratas por caja. Las cajas utilizadas fueron de acrílico/plástico transparente estándar, teniendo un total de 25 ratas. Las frecuencias mediante las cuales se cambió cama y agua fue de 2-3 veces por semana. Las dimensiones de la caja en las cuales se resguardaron los animales, fue de 32 x 47 x 20 cm. El aislamiento sonoro fue por medio de cuartos aislados de bioterio. Se utilizaron procedimientos de bioseguridad ocupacional mediante el uso de equipo de protección personal como guantes y lentes de seguridad.

7.5 Métodos

7.5.1 Síntesis de nanopartículas de oro con curcumina

Para la síntesis de nanopartículas de oro, se implentó el método Turkevich, el cual se basó en la utilización del ácido cloroáurico (HAuCl₄) y citrato de sodio . Se utiliza como agente reductor el citrato de sodio, el cual va a reducir Au³⁺ a Au⁰, además de actuar como agente estabilizante mediante la siguiente reacción:



Este método dio como resultado la creación de nanopartículas de oro. El ácido cloroaúrico se colocó (45.4 mL) a una temperatura aproximada de 150 °C con un agitador magnético, justo antes de hervir, se añadió citrato de sodio 34 mM (4.6mL) en una proporción de 10:1, con agitación y temperatura constantes hasta un cambio en la coloración de negro a rojo, aproximadamente 5-10 minutos, cuando se obtuvo ese cambio de color, se detuvo la reacción. Para la síntesis verde de nanopartículas de oro y curcumina, se colocó ácido cloroaúrico a temperatura ambiente, agitador magnético, se añadió curcumina 200 mM y se mantuvo el agitador durante 24 horas hasta un cambio de coloración. Las variables fueron pH, temperatura, concentración de curcumina y ácido tetracloroaúrico y tiempo de agitación. (Kimling *et al.* 2006; Cardoso 2011; Wuithschick *et al.* 2015).

7.5.2 Determinación de LD₅₀ de las nanopartículas de oro con curcumina

Se utilizaron 3 grupos de ensayo preliminares, cada uno con 3 ratones CD-1. Se utilizaron dosis de 40, 75, 100 mg/kg respectivamente de nanocomposito de nanopartículas de oro con curcumina por medio de inyección intraperitoneal (i.p.). Las dosis fueron designadas de acuerdo a la toxicidad reportada (Singh *et al.* 2013; Fadel *et al.* 2018; Hoshikawa *et al.* 2018; Inostroza-Riquelme *et al.* 2018; Rahimi-Moghaddam *et al.* 2018). Al final de los ensayos preliminares se asignó un grupo final definitivo de 10 ratones y se inyectó i.p. una dosis 3 veces mayor a 180mg/kg la utilizada en el ensayo *in vivo* (60mg/kg), sin mostrar letalidad en ninguno de los ratones.

7.5.3 Inducción de nefrotoxicidad con gentamicina

Para inducir nefrotoxicidad se utilizó el modelo murino de gentamicina, en el cual se le administró vía intraperitoneal a cada la rata una cantidad de 80 mg/Kg/ por 7 días (Erdem *et al.* 2000; El-Zawahry & El Kheir 2007; Negrette-Guzmán *et al.* 2015; Sodimbaku *et al.* 2016; Apaydin Yildirim *et al.* 2017; Heidarian *et al.* 2017; Mahmoud 2017; Karaman *et al.* 2018; Al Suleimani *et al.* 2018; Sun *et al.* 2018).

7.5.4 Biomarcadores renales séricos

En el octavo y decimoquinto día de tratamiento, las ratas se sacrificaron con guillotina. La sangre se extrajo directamente de las carótidas, el plasma se separó (4000 rpm durante 20 min) y se almacenó a -20 °C hasta su posterior análisis.

Para determinar creatinina en sangre, se basó en la reacción de la creatinina con el picrato. Dicho analito reacciona con el picrato alcalino formando un complejo rojizo.

Los reactivos utilizados fueron el ácido pícrico (17.5 mmol/L), hidróxido de sodio (0.29 mol/L) y un patrón primario acuoso de creatinina (2 mg/dL).

Para preparar los reactivos se mezclaron volúmenes iguales de ácido pícrico e hidróxido de sodio. Para el procedimiento:

1. Preparar las condiciones iniciales, la longitud a la cual se leyó el ensayo fue de 492nm, cubeta de 1cm y una temperatura de 37°C/15-25°C.
2. Se ajustó el espectrofotómetro a cero frente al blanco del reactivo.
3. Para la cubeta fue necesario pipetear de la siguiente manera:

	Blanco	Patrón	Muestra
Mezcla de reactivos (Ácido pícrico e hidróxido de sodio)	1.0	1.0	1.0
Patrón (micro L)	--	100	--
Muestra (micro L)	--	--	100

4. Se mezcló A₁ (blanco) y dejó durante 30 segundos para proceder a la lectura de absorbencia, después de 90 segundos A₂ (muestra) de la adición de la muestra.
5. Se mezcló A₁ (blanco) durante 30 segundos para proceder a la lectura de absorbencia, después de 90 segundos A₂ (patrón) de la adición.
6. Se calculó la diferencia de A = A₂ - A₁.
7. Se calculó: mg/dL de creatinina = (diferencia de A (muestra) / diferencia de A (patrón)) * 2 (concentración patrón) (Perazzi & Angerosa 2011).

Para determinar urea en sangre, se utilizó el método enzimático de la ureasa, los reactivos utilizados son el buffer que contiene TRIS(hidroximetil) aminometano pH 7.8 mmol/L, alfa-cetoglutarato 6mmol/L, ureasa 75000 U/L y el otro reactivo, que contiene las enzimas glutamato deshidrogenasa (GLDH) 60000 U/L y dinocleotido de nicotinamida adenina (NADH) 0.32 mmol/L:

1. Se utilizó la ureasa para catalizar la hidrólisis de urea en la muestra, dando como resultado amoniaco (NH₄⁺) y dióxido de carbono (CO₂).
2. Los iones formados de amonio se incorporaron al alfa-cetoglutarato por acción de GLDH, teniendo una oxidación paralela de NADH a NAD⁺, como se muestra en la siguiente reacción:

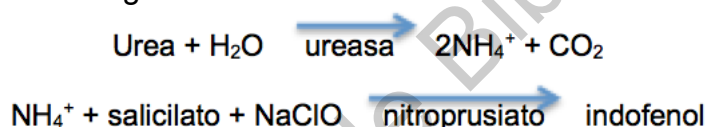


Figura 9. Reacciones enzimáticas para cuantificar urea sérica. Se muestran reacciones de ureasa y nitroprusiato (BioSystems, 2006)

3. Por lo tanto, la concentración de NADH en el medio es directamente proporcional a la concentración de urea de la muestra ensayada.
4. Se leyó absorbencia a 600nm.
5. Se calculó urea a partir de la siguiente fórmula general: (A muestra/A patrón)* C patron * factor dilución muestra= C muestra.

7.5.5 Administración de curcumina

Se administró curcumina nativa disuelta en una solución de solución fisiológica con dimetil sulfóxido al 5%, por medio de inyección intraperitoneal a una dosis de 20mg/kg. Para las nanopartículas de oro con curcumina, se administraron en una solución fisiológica con dimetil sulfóxido al 5% a una dosis de 20mg/kg mediante inyección intraperitoneal (Ali *et al.*, 2017; Singh *et al.*, 2013).

7.5.6 Estudios histopatológicos

Posterior al sacrificio se extrajo un riñón y se colocó en formol. Posteriormente se procedió a la tinción con hematoxilina-eosina.

1. Se fijó en formol.
2. Se incluyó en parafina.
3. Se retiraron los restos de parafina con disolvente xileno.
4. Se hidrató la muestra con alcoholes a distintas concentraciones 100°, 96° y 70°.
5. Se tiñó con hematoxilina.
6. Se diferenció retirando el exceso de hematoxilina con alcohol.
7. Se tiñó el citoplasma con eosina.
8. Se deshidrató retirando agua del tejido.
9. El aclarado se hizo con xileno limpiando los tejidos de alcohol.
10. Se montó después de haber pasado la muestra por el disolvente para retirar alcoholes (Torres *et al.* 2011).

7.6 Diseño Experimental

Las ratas fueron distribuidas de manera aleatoria en nueve grupos (n=6), para los primeros ocho grupos el tratamiento fue por siete días y para el grupo nueve fue por catorce días, a continuación se describen los grupos:

Grupo	Descripción (el tratamiento se administró de manera intraperitoneal – I.P.)
Grupo 1:	Grupo control (CT-) fue inyectado con solución salina con dimetilsulfóxido (DMSO) al 5% de manera intraperitoneal (I.P.).
Grupo 2:	Se inyectaron con curcumina nativa (Cur) I.P. en una solución de carboximetil celulosa al 1%, a una dosis de 200mg/kg
Grupo 3:	Se inyectaron nanopartículas de oro (AuNP) I.P. en una solución con DMSO al 5% a una dosis de 20mg/kg.
Grupo 4:	Se inyectaron nanopartículas de oro con curcumina (AuNP-Cur) I.P. con DMSO al 5% a una dosis de 20mg/kg.
Grupo 5:	Control positivo (CT+), se inyectó una dosis de 100mg/kg de gentamicina (GM) I.P.
Grupo 6:	GM (100mg/kg) y cur (200mg/kg) se inyectaron I.P. de manera concomitante, contralateralmente, de manera independiente e inmediatamente una inyección después de otra.
Grupo 7:	GM (100mg/kg) y AuNP (20mg/kg) se inyectaron I.P. de manera concomitante, contralateralmente, de manera independiente e inmediatamente una inyección después de otra.
Grupo 8:	GM (100mg/kg) y AuNP-Cur (20mg/kg) se inyectaron I.P. de manera concomitante, contralateralmente, de manera independiente e inmediatamente una inyección después de otra.
Grupo 9:	AuNP-Cur (20mg/kg) se inyectaron I.P. por 7 días, en el día 8 GM (100mg/kg) and AuNP-Cur (20mg/kg) se inyectaron I.P. de manera concomitante por 7 días más.

7.7 Análisis estadístico

Para el análisis estadístico de los datos se realizó un ANOVA seguido de una prueba *post hoc* Tukey. Se consideró significativo un valor de $P < 0.05$ (Badreldin. *et al.* 2017; Fadel *et al.* 2018).

8. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Síntesis de nanopartículas de oro con curcumina.

La reducción del ácido tetracloroáurico, pasando de una valencia de tres a cero, con la curcumina como agente reductor, da como resultado nanopartículas de oro con curcumina, cuyas soluciones coloidales tienen la capacidad de absorber ciertas frecuencias de luz, las frecuencias que no pudieron ser absorbidas se transmiten y se asocian a un cierto color, por lo que se puede observar un cambio de coloración en las soluciones (figura 10). Se utilizaron distintas concentraciones de curcumina para poder sintetizar las nanopartículas de oro, como se observa en la imagen, todas las soluciones tuvieron un cambio de coloración, esto se debe a que las nanopartículas metálicas, contienen electrones libres en la banda de conducción, éstos al estar con contacto con la luz, se produce una oscilación coherente deslocalizada de los mismos en la superficie, esta excitación electromagnética se llama polaritón del plasmón de superficie, el polaritón es una cuasi-partícula híbrida resultante del fuerte acoplamiento entre la luz y los electrones libres en la superficie de una nanopartícula, este polaritón le da la capacidad de absorber determinadas frecuencias de luz incidente y transmitir las frecuencias no absorbidas que se asocian a un determinado color. El color rojo se asocia a picos de espectros de longitudes de onda largos (hasta $\lambda \approx 600$ nm). (Kimling *et al.* 2006; Freitas de Freitas *et al.* 2018; Vijayakumar *et al.* 2018; Mihai *et al.* 2019).

Imágenes de viraje de color de las nanopartículas de oro.



Figura 10. La imagen muestra un cambio de coloración por parte del agente reductor curcumina a una concentración de 100, 200 y 300 micro molar.

Caracterización por Ultravioleta Visible de nanopartículas de oro con curcumina.

La primera caracterización del nanocomposito fue por medio de espectrofotometría en el rango de ultravioleta visible. Cuando el haz de luz del equipo incide sobre la muestra, provoca una excitación de los electrones libres presentes en la banda de conducción de la superficie de las nanopartículas, lo que da como resultado una oscilación deslocalizada de los electrones; este tipo de excitación electromagnética provoca un polaritón del plasmón de superficie resultante del acoplamiento entre la luz y los electrones libres. Existe un fenómeno llamado plasmón de superficie, el cual ocurre cuando se produce este acoplamiento entre la oscilación del polaritón y la frecuencia de la onda incidente de luz. Al utilizar el ultravioleta visible se espera ver una absorbencia clásica del plasmón superficial del oro a 520nm, sintetizada por el método Turkevich, como se muestra en la figura 11; este método está dado por la reducción del ácido tetracloroáurico, utilizando como agente reductor el citrato de sodio, pasando de una valencia 3+ a 0 (Kimling *et al.* 2006; Yeh *et al.* 2012; Cornejo 2015; Wuihschick *et al.* 2015; Alaqad & Saleh 2016; Freitas de Freitas *et al.* 2018).

Ultravioleta-Visible de nanopartículas de oro por el método Turkevich.

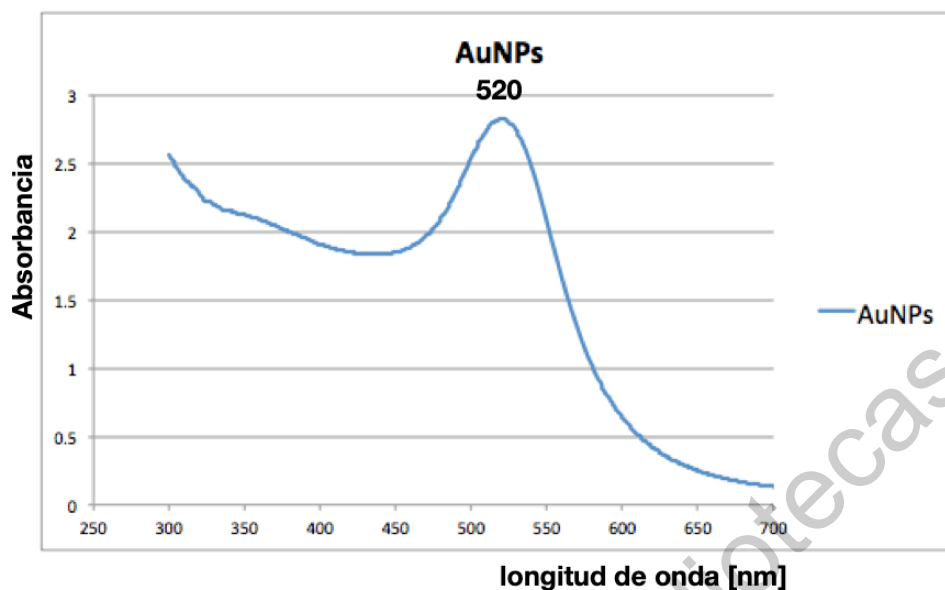


Figura 11. Imagen sobre el espectro de UV-Vis de nanopartículas de oro por el método Turkevich.

La síntesis de nanopartículas de oro con curcumina por el método verde se confirmó mediante espectrofotometría en el rango de UV-Vis como se muestra en la figura 12. El pico máximo de plasmón superficial se deslizó hacia la derecha cambiando de 520nm por el método Turkevich, a un pico máximo de plasmón superficial de una longitud de onda de 596 nm. Se dice método verde al proceso de sintetizar nanopartículas, utilizando como agente reductor la molécula o el extracto de la planta con la cual se desea crear el nanocompuesto; este tipo de método de síntesis tiene como ventajas el utilizar un menor gasto energético, menor tiempo en síntesis, menor cantidad de reactivos y tienen una mayor biocompatibilidad las nanopartículas. Otra de las ventajas presentadas por el método verde en comparación con el método químico o Turkevich, es el proceso de síntesis, que se reduce a un sólo paso, ésto es, por el método químico primero se sintetizan las nanopartículas, después se elige algún reactivo para utilizarlo como puente para poder anclar la molécula de interés, en el caso de Hoshikawa y colaboradores, utilizaron ácido mercaptoundecanoico como armazón para posteriormente acoplar ciclodextrinas (α , β , γ) con la curcumina en su interior, esto debido a su capacidad anfipática de las ciclodextrinas (Hoshikawa *et al.* 2018). Por el método verde, al utilizar la molécula deseada como agente reductor se sintetizan las nanopartículas y en el mismo paso queda la molécula con sus grupos funcionales en la nanopartícula (Liu *et al.* 2019). Se han sintetizado nanopartículas de oro por el método químico en un modelo de inflamación inducido por lipopolisacáridos en ratas, se sintetizaron nanopartículas de oro por el

método químico, posteriormente y se utilizó polietilenglicol para poder anclar la curcumina junto con otro compuesto polifenólico, extraído de la raíz de kudzu, llamado puerarin, sin embargo el método verde no es tan común en los estudios (Singh *et al.* 2013). En la figura 12 se muestra el pico máximo de resonancia de plasmón superficial deslizado por lo ya descrito, ésto debido a que la curcumina actuó como agente reductor. (Manju & Sreenivasan 2012; Fadel *et al.* 2018; Hoshikawa *et al.* 2018; Inostroza-Riquelme *et al.* 2018; Rahimi-Moghaddam *et al.* 2018; Singh *et al.* 2018; Liu *et al.* 2019).

Ultravioleta-Visible de nanocomposito de nanopartículas de oro con curcumina por el método verde.

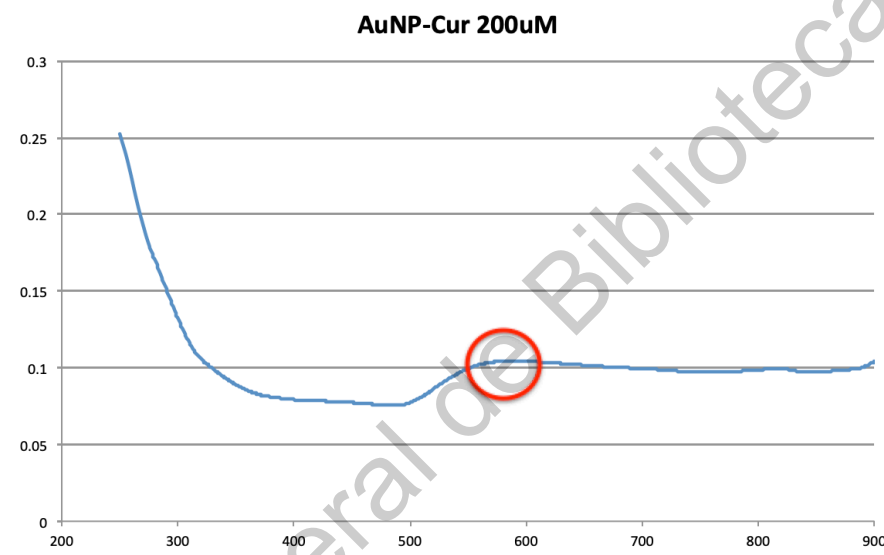


Figura 12. Imagen sobre el espectro de UV-Vis de nanocompositos de nanopartículas de oro con curcumina sintetizados por el método verde.

Caracterización de nanopartículas de oro con curcumina por Microscopio Electrónico de Transmisión.

Las nanopartículas de oro obtenidas por el método turkevich se analizaron utilizando microscopio electrónico de transmisión; la figura 13 muestra distintas características esperadas de las nanopartículas de oro por método Turkevich como tamaño entre 12 a 20 nm, formas isotrópicas, sin aglomeraciones y buena dispersión. El tamaño están dentro de los rangos ya descritos por otros autores (Connor *et al.* 2005; Kimling *et al.* 2006; Wuithschick *et al.* 2015), es preciso mencionar que los tamaños de las nanopartículas están directamente relacionados con la concentración de las sales de oro (Singh *et al.* 2013; Alaqad & Saleh 2016; Reshi *et al.* 2017; Freitas de Freitas *et al.* 2018; Hoshikawa *et al.* 2018).

Imagen de nanopartículas de oro por el método Turkevich por Microscopio Electrónico de Transmisión (TEM).

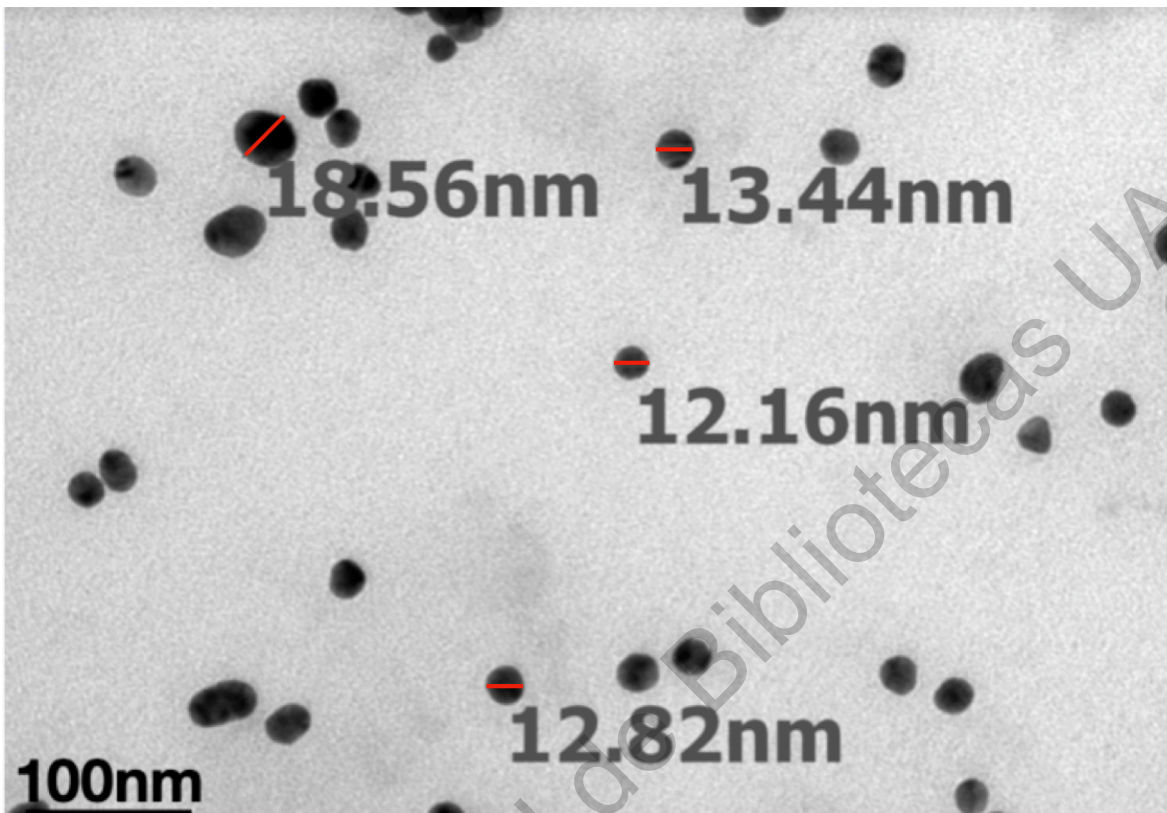


Figura 13. Micrografía Electrónica de Transmisión de nanopartículas de oro obtenidas por el método Turkevich. Las barras rojas señalan el diámetro de las nanopartículas.

Los nanocompositos de nanopartículas de oro con curcumina obtenidos por el método verde se analizaron utilizando microscopio electrónico de transmisión; la figura 14 muestra distintas características esperadas para poder ser utilizadas en modelos *in vivo* como: tamaño uniforme y formas isotrópicas, se espera ver formas esféricas, tener una buena dispersión de los compositos, sin aglomeraciones. Las formas esféricas están relacionadas con la superficie de contacto, esta característica le da un mejor acceso a las células. Estos tamaños en general se buscaron debido a las fenestras del riñón, la arteriola aferente le otorga una presión mayor al glomérulo para que pueda ocurrir la ultrafiltración, y si las nanopartículas se encuentran de un tamaño mayor a las fenestras del riñón puede ocurrir una glomérulonefritis, las fenestras del riñón son de aproximadamente 20nm por lo tanto si estos tamaños son menores no impiden el paso y por ende hay menor riesgo de inflamación (Singh *et al.* 2013; Guyton & Hall 2016). En este caso las formas y los tamaños de las nanopartículas estuvieron directamente relacionados a la concentración de la solución de curcumina utilizada y el tiempo

de agitación (Adlia *et al.* 2018; Alibolandi *et al.* 2018; El-Maddawy & El-Sayed 2018; Hoshikawa *et al.* 2018; Rahimi-Moghaddam *et al.* 2018; Singh *et al.* 2018; Liu *et al.* 2019).

Imagen del compuesto de nanopartículas de oro con curcumina por el método verde por Microscopio Electrónico de Transmisión (TEM).

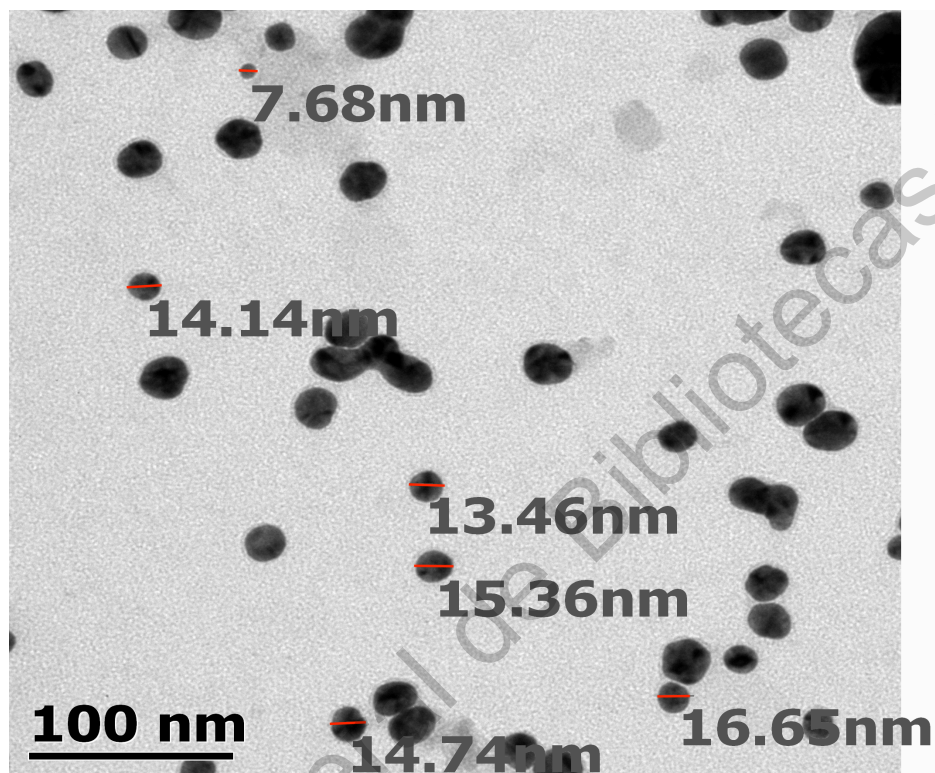


Figura 14. Micrografía Electrónica de Transmisión de nanopartículas de oro obtenidas por el método verde. Las barras rojas señalan el diámetro de las nanopartículas.

Caracterización de nanopartículas de oro con curcumina por espectroscopía Infrarroja por Transformadas de Fourier.

Se analizaron las nanopartículas de oro por espectroscopía de infrarrojo, los espectros del citrato de sodio y Turkevich, dentro del espectro en trazo azul se encuentran bandas características en una onda de 3463 cm^{-1} , la cual es característica de los alcoholes ($3500\text{-}3200\text{ cm}^{-1}$), y una banda característica en las regiones de 1600 representativas del carbonilo presente en la estructura del citrato de sodio. El espectro en trazo naranja muestra bandas características en la región cercana a los metilos y metilenos (2984 cm^{-1}), la banda del alcohol característico desaparece en las nanopartículas de oro por el método Turkevich, debido a que el alcohol se oxida y ocurre una descarboxilación, dando lugar a que los metilos y metilenos puedan vibrar de una manera más libre, que en contraste con el primer espectro, los grupos vecinos imposibilitaban la vibración de los demás mostrando una banda más ancha. Esto se sustenta en el fundamento básico de la absorción

de la radiación infrarroja por las moléculas, cuando el haz de luz infrarroja es absorbido por las moléculas provoca una transición vibracional de la molécula, dicho de otra manera, la molécula comienza a vibrar debido a la energía suministrada por la energía infrarroja (Skoog *et al.* 2001; Vergara-Castaneda *et al.* 2019).

Infrarrojo por transformadas de Fourier (FTIR) del método Turkevich.

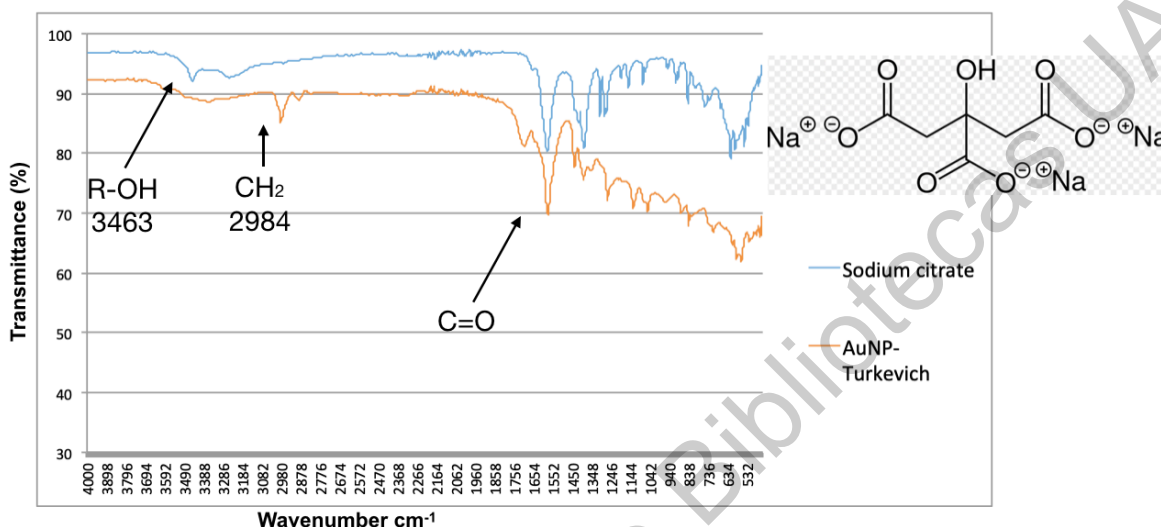


Figura 15. Espectros Infrarrojo por transformadas de Fourier de citrato de sodio y nanopartículas de oro obtenidas por el método Turkevich.

Se analizó la curcumina y el nanocomposito de nanopartículas de oro con curcuminapor espectroscopía infrarroja; la figura 16 muestra los espectros de curcumina y nanopartículas de oro por el método verde. Las bandas características de la curcumina se muestran en la banda de 3515, la cual se encuentra en la zona de los alcoholes, la siguiente banda se muestra en la zona de los alquenos lo cual va en concordancia con la molécula de la curcumina, por último se muestra la banda del carbonilo de la estructura de la curcumina. En el siguiente espectro no alcanza a ser tan visible la banda de los alcoholes, ya que los alcoholes son los que provocan esta reducción (Vergara-Castaneda *et al.* 2019), sin embargo sigue siendo constante la banda de los alquenos y la banda del carbonilo de la curcumina (Fadel *et al.* 2018; Huang *et al.* 2018; Nguyen *et al.* 2018).

Infrarrojo por transformadas de Fourier (FTIR) del método verde.

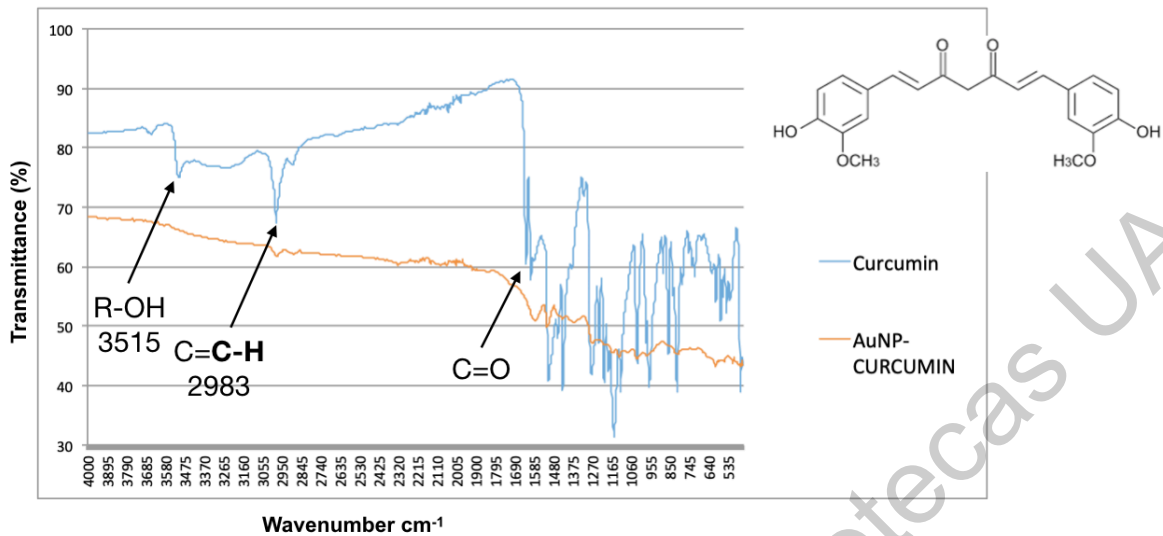


Figura 16. Espectros Infrarrojo por transformadas de Fourier de curcumina y nanopartículas de oro obtenidas por el método verde.

Resultados en la concentración de niveles de urea séricos de los tratamientos.

Los efectos de los tratamientos sobre las concentraciones séricas de urea se muestran en la figura 17, el primer grupo muestra el grupo control (CONTROL + DMSO) en el cual sólo se utilizó DMSO al 5% en solución salina el cual muestra parámetros normales de urea con una media de 51mg/dL, siendo los parámetros normales en rata de 31.6–52.6 mg/dL (León Goñi *et al.* 2011; Rivadeneyra-Domínguez *et al.* 2018). La principal fuente de la urea es la proteína obtenida de la dieta, se sintetiza en el hígado. El hepatocito desamina y transamina enzimáticamente los aminoácidos. El exceso de nitrógeno resultante ingresa al ciclo de la urea. Si llegan a existir restos que no se absorbieron por el intestino ni por la urea reciclada, las bacterias lo convierten en amoníaco, éste se difunde a través de la circulación portal hacia el hígado para poder regresar al ciclo de la urea; ésta se distribuye en el agua corporal y es excretada por el riñón mediante filtración glomerular, se excreta mediante orina a velocidades de flujo volumétrico mayores a 2 mL/min, existe una reabsorción de aproximadamente 40% de la carga filtrada con este flujo volumétrico, sin embargo a flujos volumétricos menores, la reabsorción puede llegar a ser de aproximadamente 60%, lo anterior sucede por una obstrucción en el tracto urinario, dando lugar a mayor tiempo de reabsorción por parte de la hormona antidiurética, aumentando la permeabilidad del túbulo colector terminal de la urea, ocurre una antidiuresis inducida por la hormona antidiurética aumentando la concentración intratubular de urea, posterior al aumento de concentración, la acumulación de urea en la médula interna es

crítica para el proceso de concentración urinaria. Otros motivos por los cuales aumenta la reabsorción, es debido al aumento de contracción dando mayor volumen, una reducción del flujo plasmático renal debido a una insuficiencia cardíaca congestiva y al mismo tiempo una filtración glomerular disminuída (Walker *et al.* 1990; Repetto 2014; Guyton & Hall 2016).

El siguiente grupo es el grupo de gentamicina (+GM) mostrando elevación de niveles de concentración sérica de urea hasta 210 mg/dL. La gentamicina ejerce su efecto nefrotóxico por medio de necrosis tubular, se acumula preferentemente en los túbulos contorneados proximales, esto ocurre debido a que el fármaco se une a los fosfolípidos que se encuentran cargados negativamente por medio de unión catiónica. La manera en la que ingresa a la célula es por medio de endocitosis acumulándose en los lisosomas posterior a la acumulación, es la ruptura de los lisosomas sobrecargados, causando liberación de las enzimas lisosómicas y la gentamicina en el citosol. Las catepsinas y las proteasas causan proteólisis que causa lesión de otros organelos. Dentro de los organelos dañados se encuentra la mitocondria, al causar deterioro de la misma, causa producción de radicales libres y deterioro en la producción de ATP, por lo tanto, causa un modo de necrótico de muerte celular. Además de que la gentamicina forma un complejo hierro-gentamicina al quelarlo, éste es un potente catalizador de generación de radicales libres. Al tener radicales libres causados por el deterioro de mitocondria y el complejo hierro-gentamicina, éstos actúan sobre los componentes celulares, lo destruyen y conducen a una necrosis celular (Mahmoud, 2017). El estrés oxidativo generado por la gentamicina promueve el factor de transcripción NF- κ B, se disocia del complejo NF- κ B-I κ B, se transloca al núcleo para posteriormente activar la transcripción de los genes diana como iNOs, IL-6, TNF- α y COX-2 (Vysakh *et al.* 2018). Al causar daño renal de esta índole, comienza la muerte de las nefronas, que no cuentan con la capacidad de regenerarse. Al provocar esta muerte, los riñones pierden la capacidad de filtrar la sangre, eliminar los residuos filtrados y al mismo tiempo mantener un control hídrico, bajando las cantidades de orina en el organismo y acumulación de biomarcadores de función renal en el suero (Guyton & Hall 2016).

El siguiente grupo fue el de curcumina nativa concomitante con gentamicina (+GM+CUR) mostrando niveles altos de urea 150mg/dL, sin llegar a los mismos niveles del grupo del control positivo (daño nefrotóxico), lo anterior va de acuerdo con Negrette y colaboradores quienes utilizaron un modelo de gentamicina a la misma dosis, lograron obtener una reducción de este biomarcador de 37%, dando como explicación una protección por parte de la curcumina en la mitocondria por la vía de Nrf2 (Negrette-Guzmán *et al.* 2015). Además en otro estudio realizado por He y colaboradores se utilizó el mismo modelo de gentamicina, sin embargo, en este estudio, la curcumina utilizada logró mantener los niveles normales de este

biomarcador, además de proponer la misma vía de señalización de Nrf2 (He *et al.* 2015). Otros mecanismos descritos para la protección por parte de la curcumina es que estabiliza a la membrana cambiando las características de unión catiónica, inhibe la producción de especies reactivas de oxígeno y la entrada de Calcio (Ca^{2+}), esto se ha descrito como una inhibición de la curcumina al canal de Ca^{2+} sensible al inositol-trifosfato, rompe acoplamiento del almacén del calcio, inhibe factores de transcripción proinflamatorios como el activador de la transcripción 3, NfκB y la Wnt/β catenina. El receptor es activado por el proliferador de peroxisoma y la vía de señalización Nrf2, dando como resultado una regulación negativa de interleucina-6, resistina, leptina y proteína quimiotáctica monocítica (El-Zawahry & El Kheir 2007; Gopi *et al.* 2017; Kunnumakkara *et al.* 2017; El-Maddawy & El-Sayed 2018).

El siguiente grupo es el de nanopartículas de oro por el método turkevich concomitante con gentamicina (+GM+AuNP), mostrando también niveles altos de urea en 105mg/dL. Los efectos tanto de urea como de creatinina restaurados por las nanopartículas de oro *per se* puede deberse al efecto antioxidante otorgado por las mismas, estudios previos ya habían demostrado en ratones con estrés oxidativo el efecto de las nanopartículas de oro. De acuerdo a BarathManiKanth y colaboradores, se sugieren que el efecto antioxidante de las nanopartículas de oro se da por la estimulación de la actividad de glutatión, lo anterior lo probaron en modelo de ratones diabéticos, además de exhibir un efecto inhibitorio en la actividad de NF-κB (Barathmanikanth *et al.* 2010), además de no mostrar efecto nefrotóxico, aunque la uremia no disminuye al nivel del control sano (Connor *et al.* 2005; Ravi Shukla *et al.* 2005; Reshi *et al.* 2017).

El siguiente tratamiento es el del composito de nanopartículas de oro con curcumina y gentamicina (+GM+AuNP-CUR) el cual se mantuvo en niveles normales de urea en 50mg/dL, los siguientes tratamientos mantienen niveles normales comprobando nula nefrotoxicidad, por parte de la curcumina nativa (+CUR), nanopartículas de oro (+AuNP) y composito de nanopartículas de oro con curcumina (+AuNP-CUR). Por último tenemos el pretratamiento de 7 días previos al tratamiento de gentamicina del composito de nanopartículas de oro con curcumina (+PRET.AuNP-CUR+GM) mostrando y manteniendo niveles normales de urea (39.6-68.8mg/dL) (León Goñi *et al.* 2011; Rivadeneyra-Domínguez *et al.* 2018).

Niveles de urea en ratas

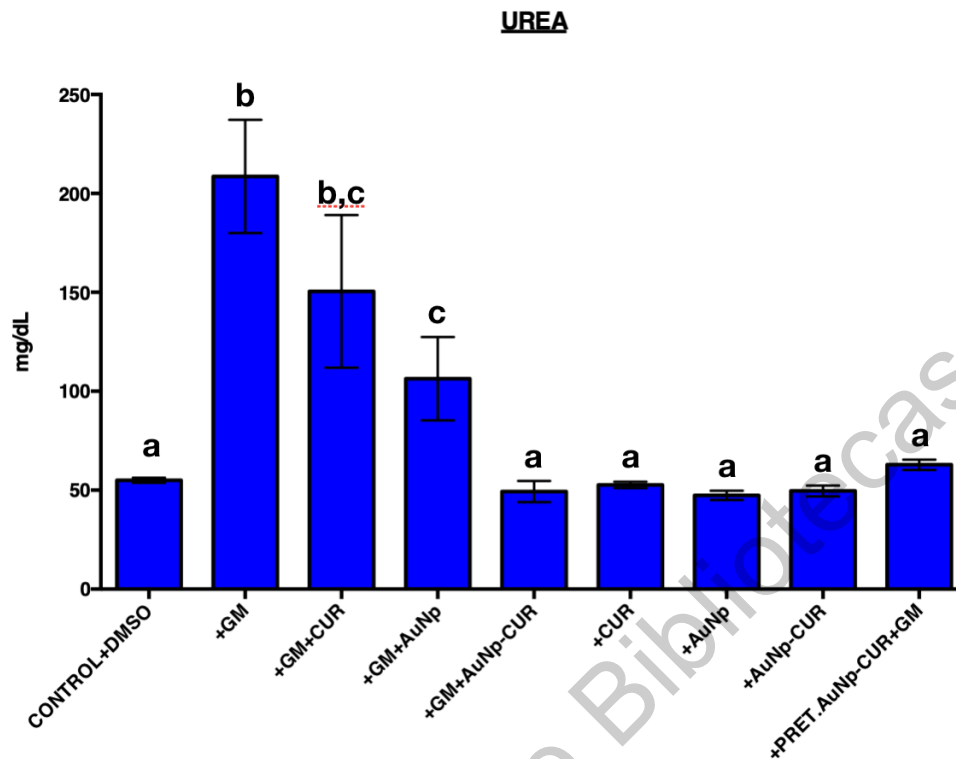


Figura 17. Efecto de los tratamientos sobre las concentraciones séricas de urea. Los datos fueron analizados con ANOVA y prueba *post hoc* Tukey, las barras muestran desviaciones estándar. CONTROL+DMSO (solución salina + DMSO 5%, por 7 días), +GM (gentamicina, por 7 días), +GM+CUR (gentamicina + curcumina nativa, por 7 días), +GM+AuNP (gentamicina + nanopartículas de oro, por 7 días), +GM+AuNP-CUR (gentamicina + nanopartículas de oro con curcumina, por 7 días), +CUR (curcumina nativa, por 7 días), +AuNP (nanopartículas de oro, por 7 días), +AuNP-CUR (nanopartículas de oro con curcumina, por 7 días), +PRET. AuNP-CUR+ GM (pretratamiento por 7 días de nanopartículas de oro con curcumina, día 8 comienzo de tratamiento de gentamicina + nanopartículas de oro con curcumina por 7 días más).

Resultados en la concentración de niveles de creatinina séricos de los tratamientos.

Los efectos de los tratamientos sobre las concentraciones séricas de creatinina se muestran en la figura 18, la primera barra muestra el grupo control (CONTROL + DMSO) con DMSO al 5% en solución salina. Cuando se sintetizan nanopartículas es complicado cuantificar la cantidad que se desea administrar, por lo anterior, se procedió a sintetizar las nanopartículas, secarlas y posteriormente resuspenderlas con DMSO al 5%, se utilizó esta concentración debido a que es la concentración a la cual no se observa efecto tóxico de manera intraperitoneal en ratas y además

con esa concentración es posible resuspender las nanopartículas (Moskot *et al.* 2019). Los resultados del control muestran parámetros normales de creatinina en 0.4 mg/dL, siendo los parámetros normales en rata de 0.4-0.88 mg/dL (León Goñi *et al.* 2011; Rivadeneyra-Domínguez *et al.* 2018).

Para la formación la creatinina es necesario una transaminación de arginina a glicina, con lo anterior se forma ácido guanidoacético o glicociamina, realizándose principalmente en el riñón, sin embargo también se puede dar en el intestino delgado y el páncreas. Este producto es transportado al hígado, en el que se transforma en creatina mediante una metilación por parte de la S-adenosil metionina. Ya formada la creatina, ingresa a la circulación y aproximadamente el 90% de ésta, es absorbida y almacenada por el tejido muscular. Lo anterior se logra gracias a una reacción de fosforilación para convertir a la creatina en fosfoquinasa, esta reacción es catalizada por la creatina fosfoquinasa. Es por eso que la producción de creatinina refleja esencialmente la masa corporal magra, y ya que esta masa cambia poco día con día, se puede tomar una tasa de producción constante. La creatinina es distribuida por el agua corporal, por lo tanto, su concentración en suero está dada por la tasa de producción y excreción que generalmente se toman como constantes. Algunas ocasiones puede ser que la creatinina sea más alta por la tarde que por la mañana, debido a la ingesta de carne, ya que la cocción de carne convierte la creatina de la misma en creatinina. La creatinina es excretada principalmente por los riñones. Es filtrada libremente por el glomérulo. Esta creatinina no se reabsorbe ni se ve afectada por el flujo de la orina. En condiciones normales es secretada por los túbulos en una cantidad pequeña sin embargo se considera significativa, aproximadamente 10% de la excreción total (Walker *et al.* 1990; Varga 2013).

La siguiente barra muestra el grupo de gentamicina (+GM), se utilizó un modelo de gentamicina de 80mg/kg de acuerdo a estudios previos (He *et al.* 2015; Negrette-Guzmán *et al.* 2015; Vysakh *et al.* 2018). Se repite lo siguiente: La gentamicina ejerce su efecto nefrotóxico por medio de necrosis tubular, se acumula preferentemente en los túbulos contorneados proximales, esto ocurre debido a que el fármaco se une a los fosfolípidos que se encuentran cargados negativamente por medio de unión catiónica. La manera en la que ingresa a la célula es por medio de endocitosis acumulándose en los lisosomas, posterior a la acumulación, es la ruptura de los lisosomas sobrecargados, esto causa una liberación de las enzimas lisosómicas y la gentamicina en el citosol. Las catepsinas y las proteasas causan proteólisis que causa lesión de otros organelos. Dentro de los organelos dañados se encuentra la mitocondria, al causar deterioro de la misma, causa producción de radicales libres y deterioro en la producción de ATP, por lo tanto causa un modo de necrótico de muerte celular. Además de que la gentamicina forma un complejo hierro-gentamicina al quelarlo, éste es un

potente catalizador de generación de radicales libres. Al tener radicales libres causados por el deterioro de mitocondria y el complejo hierro-gentamicina, éstos actúan sobre los componentes celulares, lo destruyen y conducen a una necrosis celular (Mahmoud 2017). El estrés oxidativo generado por la gentamicina estimula el factor de transcripción NF- κ B, se disocia del complejo NF- κ B-I κ B, se transloca al núcleo para posteriormente activar la transcripción de los genes diana como iNOs, IL-6, TNF- α y COX-2, causando inflamación (Vysakh *et al.* 2018). El daño causado por la gentamicina en el túbulo contorneado proximal, provoca necrosis e inflamación, por lo tanto, la creatinina al pasar por la ultrafiltración del glomérulo y la arteriola aferente, llega al túbulo contorneado proximal y pasa directamente a torrente sanguíneo, quitándole a la nefrona la capacidad de excretar este producto de desecho metabólico. El grupo de gentamicina muestra una elevación de creatinina de hasta 1.8 mg/dL, esto va de acuerdo a Negrette y colaboradores en los cuales vieron que si hubo una disminución de creatinina, sin embargo fue solamente de un 37% (Negrette-Guzmán *et al.* 2015). Sin embargo estos valores no logran mantenerse en niveles normales en comparación con otros estudios, en los cuales utilizan el mismo modelo de gentamicina y los grupos de curcumina con gentamicina logran mantener los niveles de creatinina, esto puede deberse a la forma de administración, como en el caso de El-Zawahry y El Kheir la vía de administración de la curcumina por medio de tubo de sonda gástrica, esto al pasar por el hígado y las glucoronidaciones otorgadas por las enzimas hepáticas, ya no se utiliza la curcumina sino curcuminoides (El-Zawahry & El Kheir 2007). He y colaboradores utilizan un tubo de sonda gástrica, sin embargo utilizan la parte no polar de la curcumina para poder mezclarla y suspenderla en una solución de aceite de oliva, lo anterior forma curcuminoides después de pasar por el hígado (He *et al.* 2015).

El grupo siguiente muestra la curcumina nativa concomitante con gentamicina (+GM+CUR) siendo consistentes los niveles altos de creatinina, en este caso de 1.1 mg/dL, la curcumina nativa, esto es curcumina sin reformular, muestra un efecto pleiotrópico, dentro de los cuales, el nefroprotector es el deseado en este protocolo. El principal problema es su baja biodisponibilidad, provocando un reto para poder administrar la misma (Anand *et al.* 2007). Sin embargo, la curcumina de manera nativa ya ha demostrado tener efecto nefroprotector en distintos modelos de nefrotoxicidad, esto se da debido a distintos mecanismos moleculares (se repite lo siguiente) como inhibir factores de transcripción proinflamatorios como el activador de la transcripción 3, Nf κ B y la Wnt/ β caterina. Activa el receptor activado por el proliferador de peroxisoma y la vía de señalización Nrf2, dado como resultado una regulación negativa de interleucina-6, resistina, leptina y proteína quimiotáctica monocítica, además de favorecer la adiponectina (El-Zawahry & El Kheir 2007; Negrette-Guzmán *et al.* 2015; Badreldin. *et al.* 2017; Kunnumakkara *et al.* 2017; El-Maddawy & El-Sayed 2018).

El siguiente grupo es el de nanopartículas de oro por el método turkevich concomitante con gentamicina (+GM+AuNP) mostrando también niveles altos de creatinina 0.9 mg/dL, el siguiente grupo muestra el composito de nanopartículas de oro con curcumina concomitante con gentamicina (+GM+AuNP-CUR) manteniendo los niveles normales de creatinina 0.6 mg/dL, los siguientes tratamientos de curcumina nativa (+CUR), nanopartículas de oro (+AuNP) y nanocompositos de nanopartículas de oro con curcumina (+AuNP-CUR) mantuvieron niveles normales de creatinina sin mostrar nefrotoxicidad, por último tenemos el pretratamiento de 7 días previos al tratamiento de gentamicina, el composito de nanopartículas de oro con curcumina (+PRET.AuNP-CUR+GM) mostrando y manteniendo niveles normales de creatinina 0.46-0.88 mg/dL (León Goñi *et al.* 2011; Rivadeneyra-Domínguez *et al.* 2018).

Ya que la baja biodisponibilidad de la curcumina genera un reto para administrarla, se han hecho distintas reformulaciones para poder incrementar esta biodisponibilidad como el uso de nanopartículas de oro, se han utilizado para distintas terapias, sin embargo muy poco para demostrar su efecto nefroprotector (Manju & Sreenivasan 2012; Fadel *et al.* 2018; Hoshikawa *et al.* 2018; Inostroza-Riquelme *et al.* 2018; Rahimi-Moghaddam *et al.* 2018). En este estudio demostramos los efectos del nanocomposito de nanopartículas de oro acoplado con curcumina, mostrando niveles normales de biomarcadores de función renal clásicos como urea y creatinina séricos, de acuerdo a estudios previos se puede deber a mecanismos antiinflamatorios, y por mecanismos antioxidantes otorgados por la curcumina y las nanopartículas de oro, dando un efecto aditivo de estos compuestos al nanocomposito (Connor *et al.* 2005; Ravi Shukla *et al.* 2005; Singh *et al.* 2013; Alaqad & Saleh 2016).

Niveles de creatinina en ratas

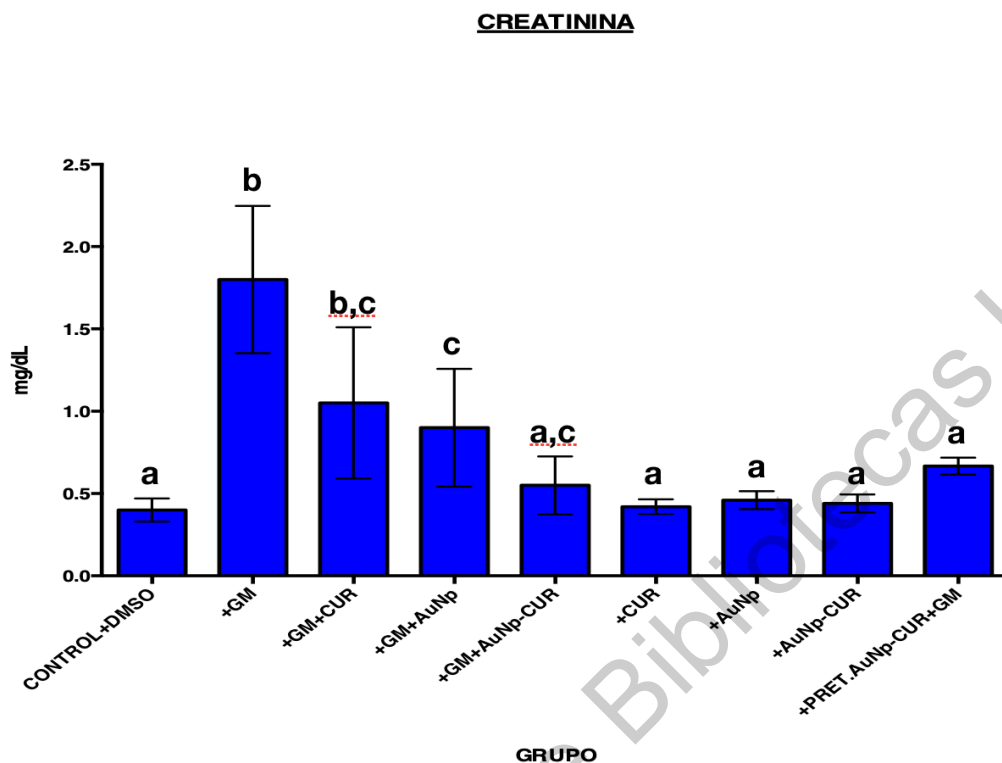


Figura 18. Efecto de los tratamientos sobre las concentraciones séricas de creatinina. Los datos fueron analizados con ANOVA y prueba *post hoc* Tukey, las barras muestran desviación estándar. CONTROL+DMSO (solución salina + DMSO 5%, por 7 días), +GM (gentamicina, por 7 días), +GM+CUR (gentamicina + curcumina nativa, por 7 días), +GM+AuNP (gentamicina + nanopartículas de oro, por 7 días), +GM+AuNP-CUR (gentamicina + nanopartículas de oro con curcumina, por 7 días), +CUR (curcumina nativa, por 7 días), +AuNP (nanopartículas de oro, por 7 días), +AuNP-CUR (nanopartículas de oro con curcumina, por 7 días), +PRET.AuNP-CUR+ GM (pretratamiento por 7 días de nanopartículas de oro con curcumina, día 8 comienzo de tratamiento de gentamicina + nanopartículas de oro con curcumina por 7 días más).

Resultados en el peso corporal de las ratas.

La gentamicina causa pérdida de apetito, además de incrementar el catabolismo en el túbulo contorneado proximal, resultando en acidosis (Erdem *et al.* 2000). El incremento observado de peso por parte de la curcumina es debido al incremento de apetito otorgado por la misma (Gupta *et al.* 2012). Además de su efecto antioxidante y antiinflamatorio, previniendo el daño causado por la gentamicina (Negrette-Guzmán *et al.* 2015). Sin embargo, en los resultados no se ve un efecto significativo de la curcumina en cuanto al efecto protector del incremento del peso de las ratas, esto está directamente relacionado a la biodisponibilidad de la curcumina (Jäger *et al.* 2014). La figura 19 muestra la diferencia de la nefroprotección otorgada por las nanopartículas de oro con curcumina, teniendo el mismo resultado pre-tratando o dándole tratamiento de manera concomitante, en el peso corporal si hubo una diferencia del grupo pre-tratado contra el grupo administrado de manera concomitante, esto se puede deber al aumento de la biodisponibilidad de la curcumina y al incremento del efecto antioxidante y antiinflamatorio del compuesto de nanopartículas de oro con curcumina (Singh *et al.* 2013).

Peso Corporal

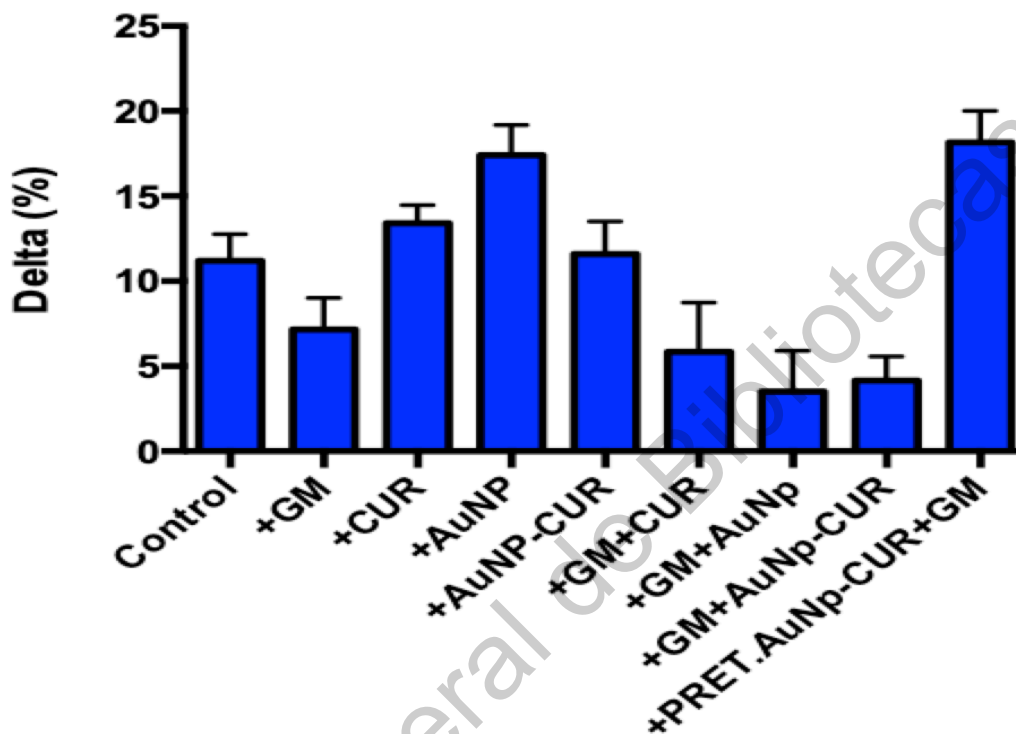


Figura 19. Efecto de los tratamientos sobre el peso de las ratas. Los datos fueron analizados con ANOVA y prueba *post hoc* Tukey, las barras muestran desviación estándar. CONTROL+DMSO (solución salina + DMSO 5%, por 7 días), +GM (gentamicina, por 7 días), +GM+CUR (gentamicina + curcumina nativa, por 7 días), +GM+AuNP (gentamicina + nanopartículas de oro, por 7 días), +GM+AuNP-CUR (gentamicina + nanopartículas de oro con curcumina, por 7 días), +CUR (curcumina nativa, por 7 días), +AuNP (nanopartículas de oro, por 7 días), +AuNP-CUR (nanopartículas de oro con curcumina, por 7 días), +PRET.AuNP-CUR+ GM (pretratamiento por 7 días de nanopartículas de oro con curcumina, día 8 comienzo de tratamiento de gentamicina + nanopartículas de oro con curcumina por 7 días más).

Análisis histopatológico de los tratamientos.

Fotomicrografía del grupo control negativo, mostrado en la figura 20. El DMSO es un compuesto de carácter orgánico, el cual se compone por una molécula anfipática, la parte no polar se compone por dos grupos apolares y la parte polar se compone de un grupo altamente polar, estas características le otorgan al DMSO una capacidad para solubilizarse en medios orgánicos y acuosos (Vásquez 2010). Este compuesto no presenta citotoxicidad en concentración hasta 5% en rata, estos resultados son consistentes con Ahmed y colaboradores, en su estudio en el cual evaluaron el efecto de dos fármacos para la nefropatía diabética, utilizaron DMSO al 5% como control negativo, obteniendo los resultados similares (Ahmed *et al.* 2019). Además de seguir siendo consistente con una comparativa del uso de solventes de fármacos y sus acciones biológicas, en el cual no se observa toxicidad del mismo al 5% (Kelava *et al.* 2011).

Histopatología del control negativo de riñón de rata

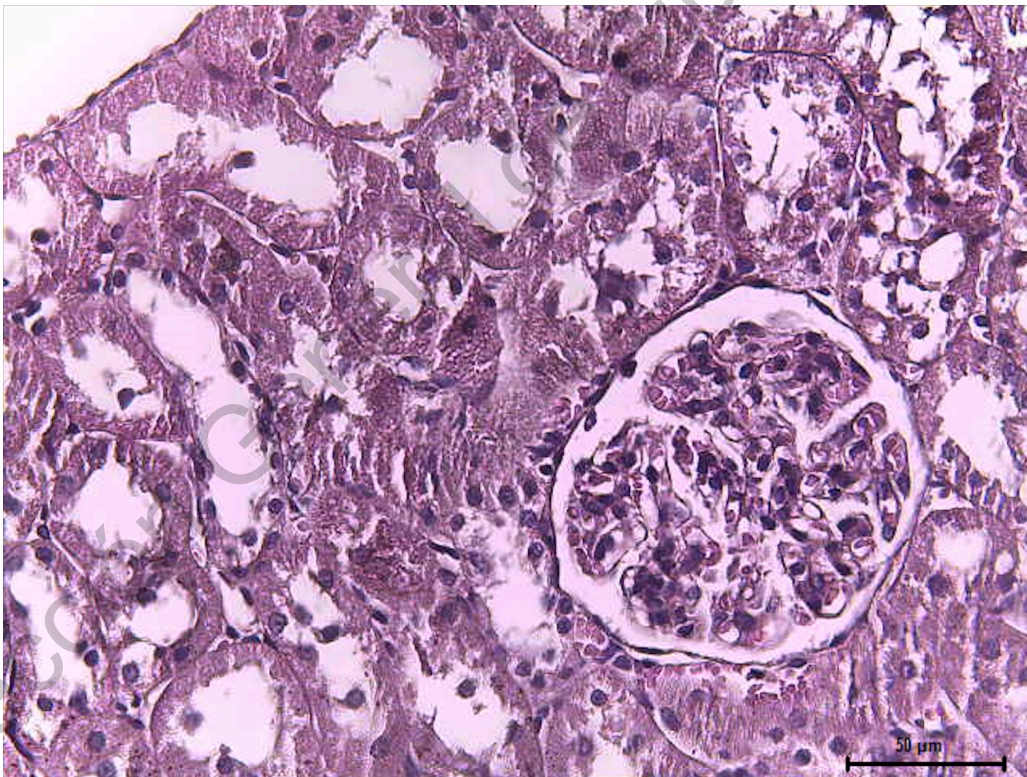


Figura 20. Fotomicrografía del control negativo (solución fisiológica + DMSO 5%) en la que se observa estructuras normales de glomérulo, túbulo proximal y distal. 50 μ m.

La figura 21 muestra el grupo de la curcumina nativa, mostrando conservación de estructuras de glomérulo y túbulo, como se ha reportado anteriormente, la curcumina de manera nativa, esto es, sin modificaciones ya sea de estructura o alguna reformulación con algún adyuvante, micelas, emulsiones, no ejerce toxicidad en el riñón (Badreldin *et al.* 2005; Farombi & Ekor 2006; El-Zawahry & El Kheir 2007; Manikandan *et al.* 2011; Mahmoud *et al.* 2014; He *et al.* 2015; Hismiogullari *et al.* 2015; Negrette-Guzmán *et al.* 2015; Badreldin. *et al.* 2017).

Histopatología del grupo de curcumina nativa de riñón de rata

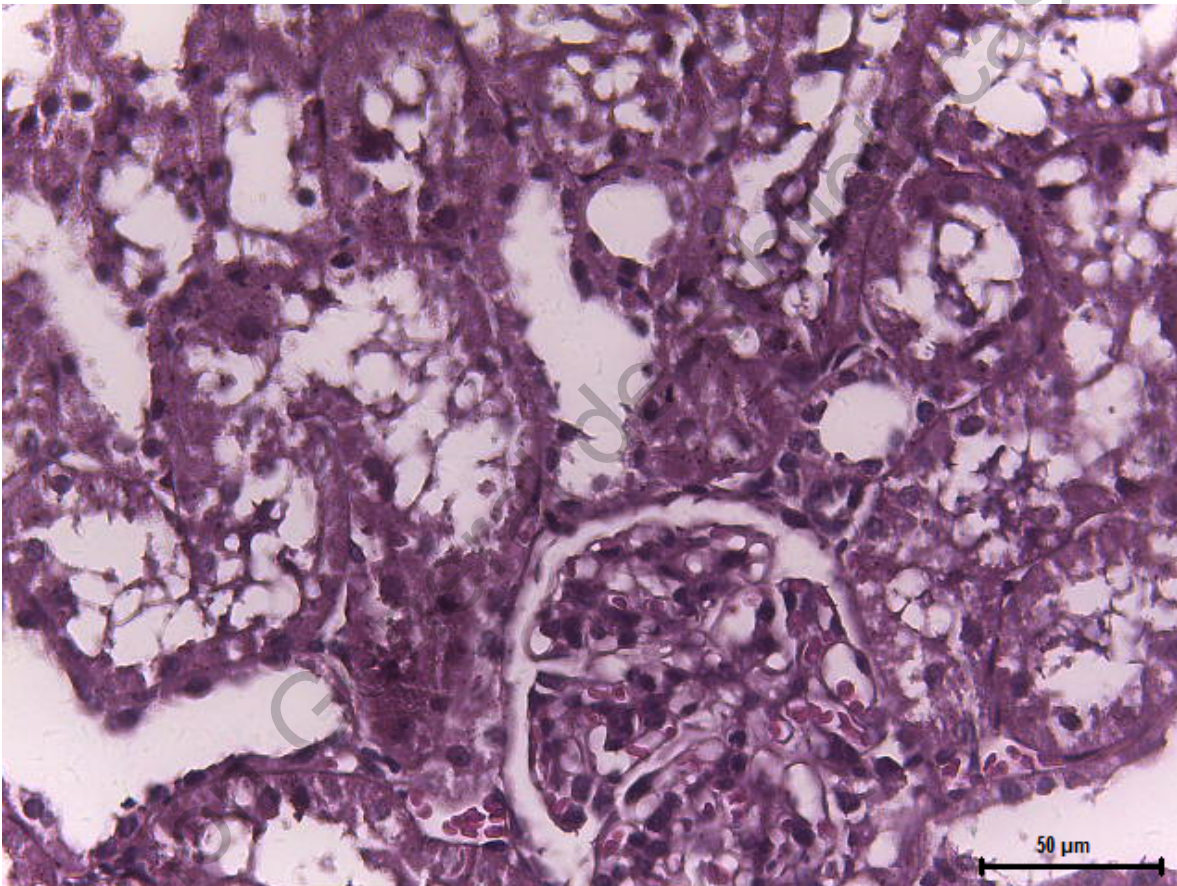


Figura 21. Fotomicrografía del grupo tratado con curcumina nativa. Se observa estructuras normales de glomérulo, túbulo proximal y distal. 50 μm .

Fotomicrografía del grupo de nanopartículas de oro mostrado en la figura 22, se observa conservación de estructuras de glomérulo y túbulo, sin daño al riñón. Estudios previos muestran que las nanopartículas de oro sintetizadas por el método Turkevich no ejercen toxicidad en el riñón, tal es el caso de BarathManiKanth y colaboradores en el que utilizaron un modelo de ratones

diabéticos en condiciones de hiperglucemia, concordando con los resultados de histopatología obtenidos en nuestro estudio (Barathmanikanth *et al.* 2010). Los resultados obtenidos siguen siendo consistentes de acuerdo a otro estudio en donde se utilizó un modelo de daño hepato-renal inducido por paracetamol, sin obtener respuesta tóxica por las nanopartículas de oro (Reshi *et al.* 2017). En contraste con un estudio en el cual evaluaron histopatología de diferentes órganos de ratones expuestos a nanopartículas de oro, se observó una disminución y distorsión de los glomérulos sin embargo no fue estadísticamente significativo (Ibrahim *et al.* 2018).

Histopatología del grupo de nanopartículas de oro de riñón de rata

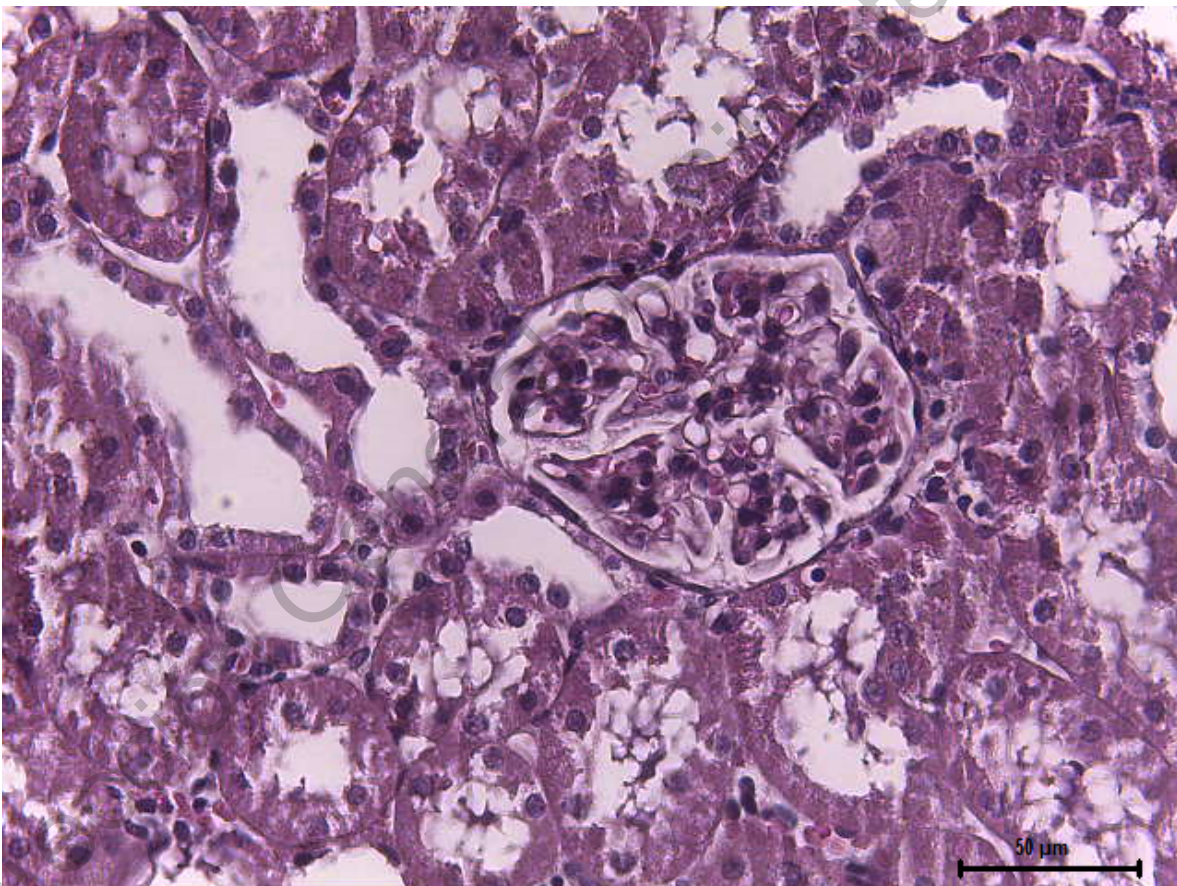


Figura 22. Fotomicrografía del grupo tratado con nanopartículas de oro. Se observa estructuras normales de glomérulo, túbulos proximales y distales. 50 μm .

Fotomicrografía del grupo del compuesto de nanopartículas de oro con curcumina mostrado en la figura 23, la fotomicrografía muestra conservación de estructuras tanto glomerulares como tubulares, sin daño por necrosis, edema o infiltraciones

inflamatorias por linfocitos. Moghaddam y colaboradores sintetizaron un nanocomposito de PEG, curcumina y nanopartículas de oro con el fin de utilizarlo como agente fotosensibilizador, además de comprobar su toxicidad en el riñón, los resultados del estudio son consistentes con los resultados obtenidos (Rahimi-Moghaddam *et al.* 2018). En un estudio en el cual sintetizaron nanopartículas de curcumina en partículas sólidas de lípidos para probar su actividad antiinflamatoria de la IL-1 beta, realizaron histopatología renal y los resultados de las nanopartículas con curcumina, son contundentes con los resultados obtenidos (Wang *et al.* 2015).

Histopatología del grupo del composito de nanopartículas de oro con curcumina de riñón de rata

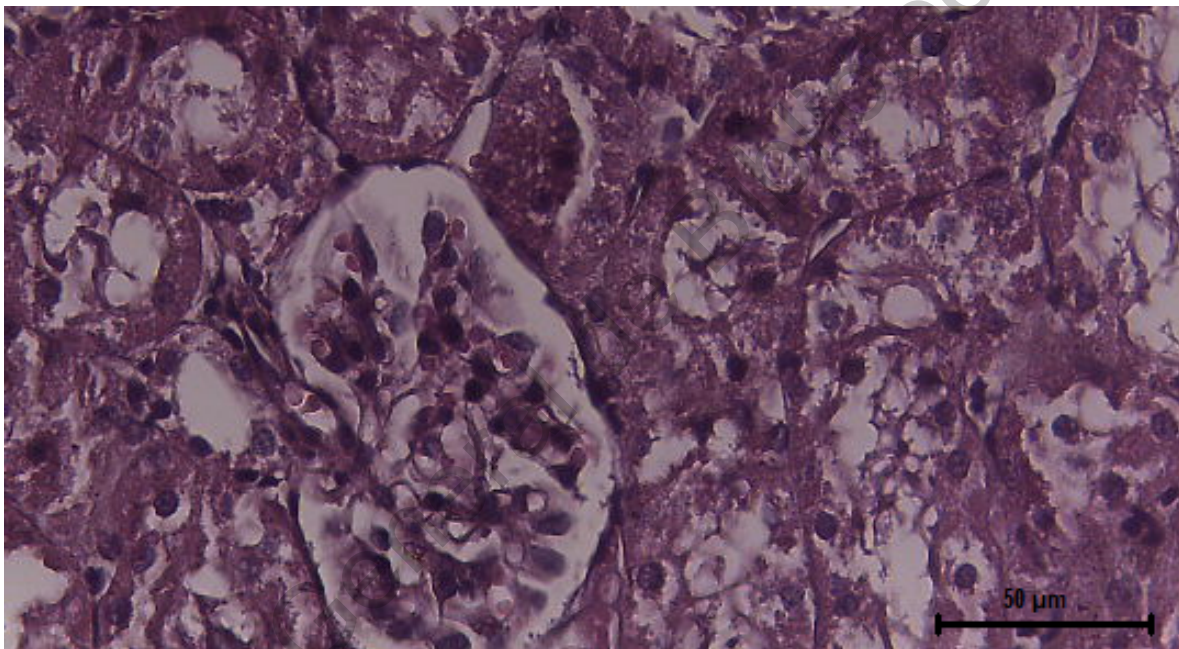


Figura 23. Fotomicrografía del grupo tratado con el composito de nanopartículas de oro con curcumina. Se observa estructuras normales de glomérulo, túbulos proximales y distales. 50 μm .

La figura 24 muestra el grupo de control positivo de daño nefrotóxico por gentamicina. Las fotomicrografías muestran proteína en la luz de los túbulos (proteinuria) y material eosinofílico de apariencia homogénea compatible con proteína. Este grupo mostró un 40% de necrosis en los túbulos contorneados proximales y edema en el intersticio de la corteza, infiltrado inflamatorio linfocitario multifocal, edema y hemorragia. La caracterización del daño nefrotóxico con el modelo de gentamicina a la misma dosis se ha realizado, reportando material proteico en el lumen del túbulo y gotas hialinas (Udupa & Prakash 2018). El edema presentado en los resultados del grupo, es consistente con un estudio en el

cual utilizaron gentamicina como inducción de daño renal y taurina para contrarrestarlo; en los resultados de gentamicina, el grupo control positivo presentó edema y el grupo de taurina no pudo contrarrestar este edema (Erdem *et al.* 2000). Se repite lo siguiente, estos daños se deben son debido a que la gentamicina es un fármaco aminoglucósido, que se une de manera catiónica a los fosfolípidos cargados negativamente en el borde del cepillo del túbulo contorneado proximal, después de su unión, ingresa por endocitosis y se acumula en lisosomas, esta sobrecarga en los lisosomas causa la rotura de los mismos, liberando enzimas lisosomales como proteasas y la gentamicina queda libre en el citosol, las proteasas causan proteólisis y lesión en otros organelos. Uno de los organelos dañados es la mitocondria, al causar daño a la mitocondria ocurre un deterioro en la producción de ATP, producción de radicales libres como el anión superóxido, hidroxilo y peróxido de hidrógeno y necrosis. El estrés oxidativo generado por el daño estimula el factor de transcripción NF- κ B, éste se disocia del complejo NF- κ B-I κ B translocándose al núcleo, posteriormente ocurre una activación transcripcional de genes diana incluidos IL-6, iNOS, TNF- α , COX -2 (Mahmoud 2017; Vysakh *et al.* 2018). Además de esta cascada de daño causada por la unión a los fosfolípidos, causa fosfolipidosis, en consecuencia los fosfolípidos lisosomales causan una reducción de la carga negativa que requieren las fosfolipasas para poder ejercer sus funciones, por lo tanto se inhiben las fosfolipasas A1, A2 y C1 (Lopez-Novoa *et al.* 2011). Otra manera de ingreso de gentamicina, es por medio de la expresión de un transportador de proteínas y cationes, el complejo endocítico megalina y cubilina, este complejo está restringido al túbulo proximal. Estos medicamentos pasan al compartimiento endosómico y se acumulan principalmente en aparato de golgi, retículo endoplasmático y lisosomas (Christensen & Birn 2001; Lopez-Novoa *et al.* 2011). Lo anterior deriva un marcado aumento de la peroxidación lipídica, oxidación de proteínas en la corteza renal y formación de nitrotirosina, siendo éste un marcador de estrés oxidativo (Apaydin Yildirim *et al.* 2017). Los resultados se correlacionan con estudios previos, los cuales engloban el daño tisular de la gentamicina con necrosis tubular, edema, proteinuria e infiltraciones mononucleares (He *et al.* 2015; Sodimbaku *et al.* 2016; Heidarian *et al.* 2017; Al Suleimani *et al.* 2018; Sun *et al.* 2018).

Histopatología del control positivo de riñón de rata

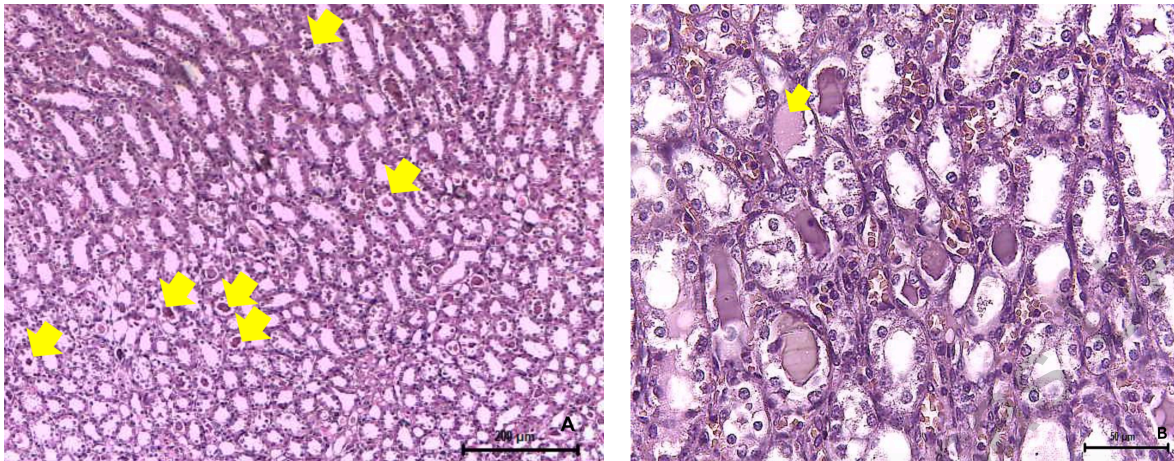


Figura 24. Fotomicrografía del grupo del control positivo de daño nefrotóxico por gentamicina. **A.** Fotomicrografía en la que se observa proteína en la luz de los túbulos (proteinuria). **B.** Fotomicrografía en la que se observa detalle de material eosinofílico de apariencia homogénea compatible con proteína. 50 μ m.

La figura 25 muestra el grupo de gentamicina con curcumina nativa, este grupo presentó un 40% de necrosis en los túbulos contorneados proximales, proteína en la luz de túbulos, 10% de necrosis en los túbulos contorneados distales, infiltrado inflamatorio linfocitario multifocal, edema y hemorragia. Estos resultados indican que la curcumina nativa no pudo evitar el daño causado por la gentamicina, estos resultados van de acuerdo a los reportados por Ali y colaboradores, en los cuales administraron curcumina nativa de manera oral, sin obtener un resultado favorable en el nivel de necrosis (Badreldin *et al.* 2005). A pesar de estas evidencias, se ha reportado que la administración de curcumina de manera oral por diferentes períodos (7, 15 y 30 días), resulta en la disminución de daños evidenciados por histopatología en los grupos de gentamicina con curcumina, y se propone que su capacidad para atrapar a las especies reactivas de oxígeno, además de incrementar los niveles de glutatión reductasa (GSH), glutatión peroxidasa (GPx), superóxido dismutasa (SOD), catalase and glutatión-s- transferasa (GST) (El-Zawahry & El Kheir 2007; Manikandan *et al.* 2011; Mahmoud *et al.* 2014). Según He y colaboradores, las especies reactivas de oxígeno generadas por la gentamicina, se vieron disminuídas por la acción de la curcumina por medio de la activación de Nrf2 (He *et al.* 2015). La curcumina además de activar Nrf2 también activa al proliferador de peroxisoma gamma coactivador-1 alfa (PGC-1 α), el cual estimula la biogénesis mitocondrial, efecto que puede restaurar de manera significativa el daño causado por la gentamicina a la mitocondria (Negrette-Guzmán *et al.* 2015). Por su parte, las infiltraciones generadas en este grupo, son comparables a las de los experimentos de Farombi y Ekor en los que

administraron curcumina en aceite de manera oral, obteniendo infiltraciones en el grupo de curcumina con gentamicina (Farombi & Ekor, 2006).

Histopatología del grupo de gentamicina con curcumina nativa de riñón de rata

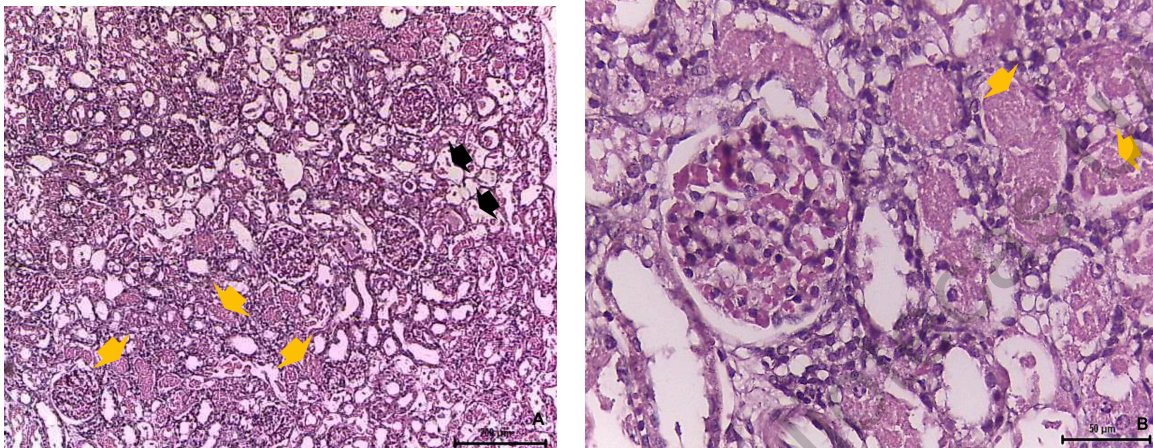


Figura 25. Fotomicrografía del grupo tratado con gentamicina y curcumina nativa.

A Fotomicrografía en la que se observan túbulos con necrosis que se caracteriza por tumefacción, eosinofilia, pérdida del detalle celular (flechas amarillas).

B Fotomicrografía en la que se observan túbulos con necrosis epitelial y descamación (flechas negras). 50 µm.

El grupo de gentamicina con nanopartículas de oro, presentó degeneración en túbulos contorneados proximales, 40% de necrosis en los mismos, proteína en la luz de los túbulos, 10% de necrosis en los túbulos contorneados distales, 3% de atrofia en los glomérulos, infiltrado inflamatorio linfocitario multifocal en el intersticio de la corteza. Reshi y colaboradores realizaron un estudio en el cual indujeron daño hepático y renal con acetaminofén y utilizaron nanopartículas de oro para demostrar el efecto protector de las mismas, los resultados obtenidos en este estudio demostraron que las nanopartículas de oro a una dosis de 50 microgramos por kilogramo de peso, no revierten el daño causado por el acetaminofén a nivel tisular, la degeneración del glomérulo y el edema persisten incluso en el grupo de nanopartículas de oro, estos datos son consistentes con los obtenidos (Reshi *et al.* 2017). Los resultados obtenidos en cuanto a marcadores de función renal en suero son distintos a los obtenidos a nivel tisular, en este caso las nanopartículas de oro, no pudieron mantener la estructura de la nefrona, edema y necrosis. Ibrahim y colaboradores realizaron un estudio en el cual evaluaron el efecto de las nanopartículas de oro al estar expuestas en diferentes órganos como riñón, hígado y bazo, los resultados fueron consistentes con los obtenidos,

cuasando glomérulos distorsionados, túbulos dilatados, edema necrosis e infiltración de células inflamatorias, debido a una inducción de fase aguda de citocinas proinflamatorias, en el riñón de las ratas expuestas a los mismos, entre más tiempo estén expuestas las ratas a las nanopartículas de oro inyectadas de manera intraperitoneal, puede causar lesiones celulares a través de la generación excesiva de especies reactivas de oxígeno (Ibrahim *et al.* 2018). En estudios previos se ha demostrado que la excreción de las nanopartículas de oro es renal, además de que la biodistribución de las mismas ocurre en una gran parte en el riñón, esta bioacumulación también está dada por el tamaño de partícula, principalmente se acumulan las nanopartículas de 30-150nm en médula ósea, riñón, corazón y estómago, esto es consistente con las nanopartículas de oro encontradas en este grupo, además se sugiere que la manera de ingreso a la célula es por medio de pinocitosis (Ravi Shukla *et al.* 2005; Barathmanikanth *et al.* 2010; Reshi *et al.* 2017).

Histopatología del grupo de gentamicina con nanopartículas de oro de riñón de rata

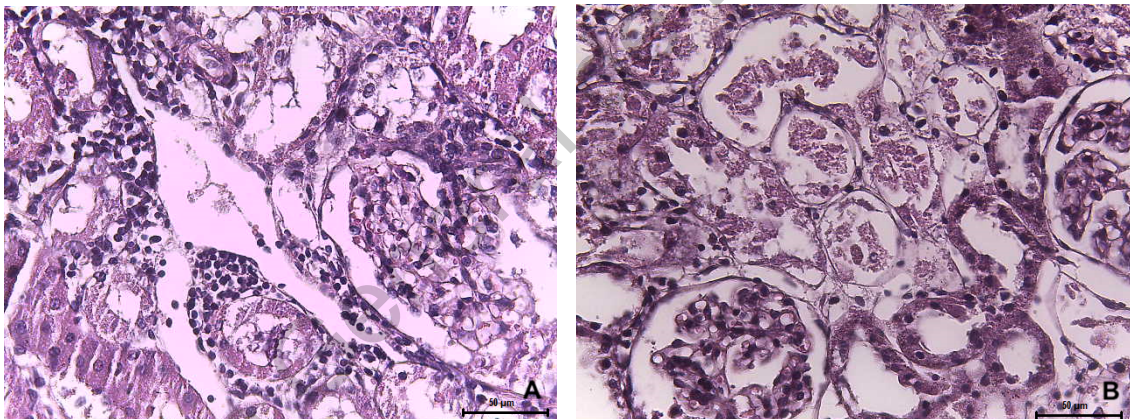


Figura 26. Fotomicrografía del grupo tratado con gentamicina y nanopartículas de oro. **A** Fotomicrografía en la que se observa infiltrado inflamatorio linfocitario multifocal. **B** Fotomicrografía en la que se observan túbulos con necrosis y degeneración. 50 µm.

Fotomicrografía del grupo de gentamicina y nanopartículas de oro mostrado en la figura 27 muestra infiltrado inflamatorio por linfocitos y conservación de estructura de glomérulo, más no de túbulos del grupo de gentamicina con el compuesto de nanopartículas de oro con curcumina. Este grupo no mostró necrosis en los túbulos contorneados proximales, sin embargo si se observó proteína en la luz de los túbulos tanto proximales como distales, mostró de 1-3% de atrofia en

glomérulos, infiltrado inflamatorio linfocitario multifocal, no presentó edema ni hemorragia. Un estudio en el cual se induce inflamación por medio de lipopolisacáridos utilizando nanopartículas lipídicas sólidas cargadas con curcumina, se comprueba que la reducción de la inflamación es por medio de la reducción de niveles de IL-1 β , disminución de la expresión de citocinas proinflamatorias séricas como IL-6, TNF-alfa, IL-10, supresión de la activación de NF- κ B y niveles de degradación de I κ B α (Wang *et al.* 2015). La reducción de los niveles de TNF-alfa se comprobó con una formulación de nanopartículas responsivas a pH con curcumina para su liberación en el colon, observándose niveles menores de TNF-alfa en los grupos tratados con las mismas (Beloqui *et al.* 2014). La reducción de niveles de TNF-alfa es consistente en otra nanoformulación hecha por Shukla y colaboradores, en la cual adjudican el efecto a la disminución de los niveles ya mencionados y también a la reducción de los niveles de estrés oxidativo, en este caso la nanoformulación fue hecha en nanoemulsiones con aceite de soya, tween 80 y acetato de tocoferol o mejor conocido como vitamina E (Sun *et al.* 2010; Shukla *et al.* 2014). En otro estudio en el cual utilizaron nanopartículas lipídicas sólidas, para atenuar el daño hepático producido por tetracloruro de carbono, se observa una conservación en la estructura de los tejidos hepáticos debido a la disminución por parte de la nanoformulación de marcadores de estrés oxidativo como malondialdehído, glutatión reducido y superóxido dismutasa (Singh *et al.* 2013; Singh *et al.* 2014; Yallapu *et al.* 2015).

Histopatología del grupo de gentamicina con el compuesto de nanopartículas de oro con curcumina de riñón de rata

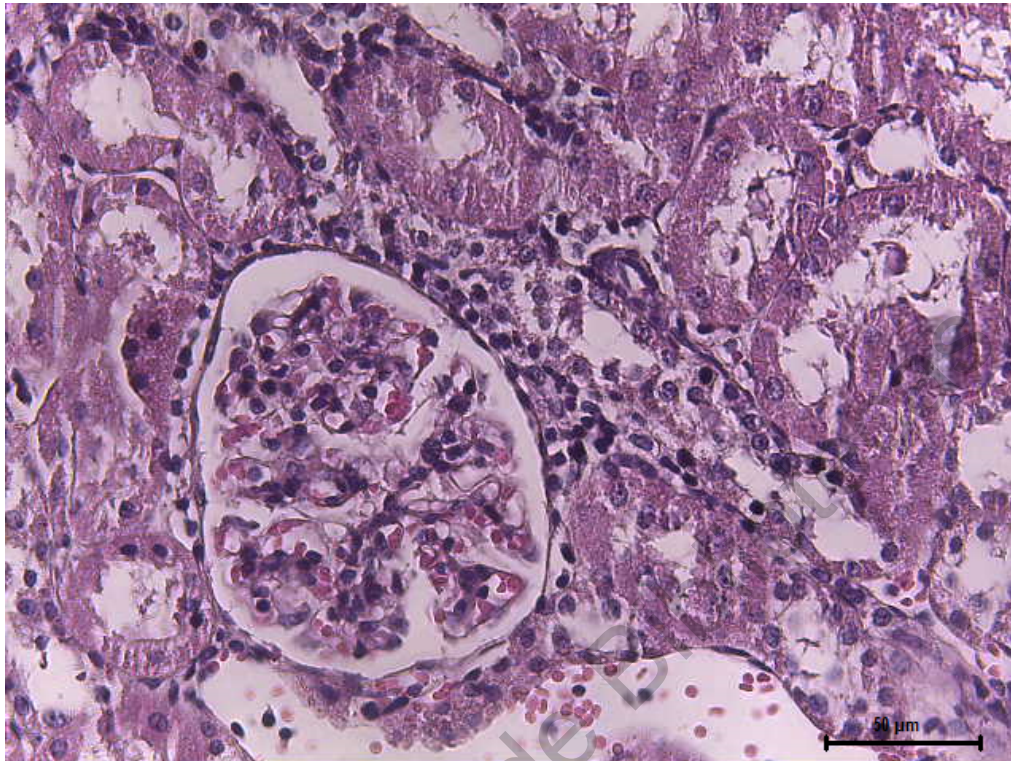


Figura 27. Fotomicrografía del grupo tratado con gentamicina y el compuesto de nanopartículas de oro con curcumina. 50 μm .

Fotomicrografía del grupo tratado con gentamicina y el compuesto de nanopartículas de oro con curcumina mostrado en la figura 28, presentó en los túbulos contorneados proximales de un 5-10% de necrosis y degeneración de los mismos, se observó proteína en la luz de los túbulos tanto proximales como distales, en cuanto a glomérulos se observa un aproximado de 1% de atrofia e infiltrado inflamatorio linfocitario multifocal. Este grupo se diferencia del anterior en los días de tratamiento; este grupo estuvo expuesto al compuesto por 14 días en comparación con el anterior que sólo estuvo expuesto 7 días. Este tiempo de diferencia causó diferencias a nivel tisular en cuanto a necrosis de túbulos y proteína, que puede relacionarse con el efecto de permeabilidad y retención de las nanopartículas de oro, este efecto provoca una acumulación excesiva de las nanopartículas en las células (Manju & Sreenivasan 2012; Yeh *et al.* 2012; Priyadarsini 2014; Wang *et al.* 2015; Yallapu *et al.* 2015; Alibolandi *et al.* 2018; Hoshikawa *et al.* 2018; Huang *et al.* 2018; Singh *et al.* 2018). Existe una

acumulación de las nanopartículas que sigue el siguiente patrón bazo >> hígado y cerebro >> corazón y riñón, de acuerdo a un estudio realizado por Singh y colaboradores, en el cual vieron la biodistribución de las nanopartículas de oro con curcumina y puerarin, en un modelo de inflamación inducido por lipopolisacáridos (Barathmanikanth *et al.* 2010; Singh *et al.* 2013; Shukla *et al.* 2014; Singh *et al.* 2014; Bishop *et al.* 2018; Ibrahim *et al.* 2018; Khan *et al.* 2019; Mihai *et al.* 2019).

Histopatología del grupo pre tratado de gentamicina con el compuesto de nanopartículas de oro concurcumina de riñón de rata

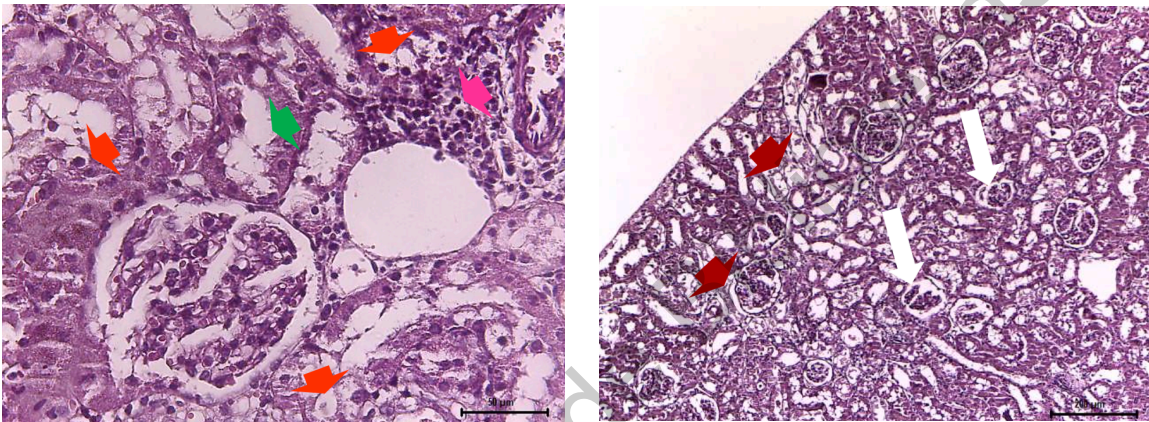


Figura 28. Fotomicrografía del grupo tratado con gentamicina y el compuesto de nanopartículas de oro con curcumina pretratado. **A** Fotomicrografía en la que se observa un foco de infiltrado inflamatorio por linfocitos (flecha rosa) así como aspecto citoplasmático hinchado y pálido (vacuolización) de los túbulos renales compatibles con glucógeno (flecha anaranjada), otros túbulos presentan cambio (flecha verde) **B** Fotomicrografía en la que se observa degeneración y necrosis tubular (flecha roja) atrofia de glomérulos (flecha blanca). 50 µm.

9. CONCLUSIONES

El objetivo principal de este proyecto fue la evaluación del efecto nefroprotector en un modelo murino de un nanocomposito de nanopartículas de oro con curcumina, fundamental para un futuro estudio clínico y una posible aportación para pacientes que padecen enfermedad renal crónica.

Se obtuvo con éxito la estandarización de la síntesis del nanocomposito, modificando de manera independiente cada factor hasta obtener el viraje de color deseado en todo momento. Posterior a la estandarización, la caracterizaron mediante TEM de cada una de las síntesis obtenidas, se logró la obtención de nanopartículas con características deseadas formas esféricas, tamaño menor a 25nm y buena distribución espacial sin aglomeramientos. Con el FTIR pudimos constatar que el nanocomposito efectivamente estaba acoplado con los grupos funcionales de la curcumina, mostrando la banda de los alquenos y los carbonilos de la molécula de la curcumina. Con lo anterior, se pudo indicar que el nanocomposito, fue estandarizado y caracterizado de manera exitosa para su posterior uso en el modelo *in vivo*. Se demostró la seguridad del nanocomposito mediante la determinación de la dosis letal 50, sin presentar letalidad incluso utilizando una dosis 9 veces mayor de la utilizada en el modelo murino.

En cuanto a los biomarcadores de función renal, el grupo de nefrotoxicidad con curcumina nativa y nanopartículas de oro, tuvieron disminución tanto de urea como de creatinina comparados con el grupo tratado con gentamicina, sin embargo no alcanzaron a mantenerlos en niveles normales. En contraste con el grupo de gentamicina y el composito de nanopartículas de oro con curcumina, lograron mantener los niveles de urea y creatinina normales. El grupo pretratado con el nanocomposito, no obtuvo una mayor disminución de los biomarcadores de función renal, sin embargo obtuvo el mismo resultado que el grupo tratado de manera concomitante con el nanocomposito.

La histopatología mostró que los grupos de nefrotoxicidad con curcumina y nanopartículas de oro, no lograron tener un efecto nefroprotector a nivel tisular. No obstante, el grupo de nefrotoxicidad tratado con el composito, presentó mejor conservación de estructura, menores niveles de necrosis y atrofia de glomérulos. Por su parte, el grupo pretratado, no obtuvo los mismos resultados; el mayor tiempo en exposición con el nanocomposito, podría causar una mayor bioacumulación en las nefronas, con pérdida de estructuras, necrosis, y atrofia de glomérulos, es por esto que se descarta la idea de que un pretratamiento con nanopartículas de oro con curcumina podría tener un mayor efecto nefroprotector, con este estudio se demuestra que este nanocomposito, presenta una mayor nefroprotección en comparación con la curcumina nativa y las nanopartículas de oro, tanto en biomarcadores de función renal como a nivel tisular.

10. REFERENCIAS

- Adlia, A., Tomagola, I., Damayanti, S., Mulya, A., & Rachmawati, H. 2018. Antifibrotic Activity and In Ovo Toxicity Study of Liver-Targeted Curcumin-Gold Nanoparticle. *Scientia Pharmaceutica* 86: 41.
- Ahmed, O.M., Ali, T.M., Gaid, M.A.A., & Ahmed, A. 2019. Effects of enalapril and paricalcitol treatment on diabetic nephropathy and renal expressions of TNF- α , P53, Caspase-3 and Bcl-2 in STZ-induced diabetic rats. 14: 0–3.
- Alamgeer, Niazi, S.G., Uttra, A.M., Qaiser, M.N., & Ahsan, H. 2017. Appraisal of anti-arthritic and nephroprotective potential of *Cuscuta reflexa*. *Pharmaceutical Biology* 55: 792–798.
- Alaqad, K., & Saleh, T.A. 2016. Gold and Silver Nanoparticles: Synthesis Methods, Characterization Routes and Applications towards Drugs. *Journal of Environmental & Analytical Toxicology* 6:.
- Alexánder, E., & Gamba, G. 2014. *Fisiología cardiovascular, renal y respiratoria*. Manual Moderno, México.
- Alibolandi, M., Hoseini, F., Mohammadi, M., Ramezani, P., Einafshar, E., Taghdisi, S.M., Ramezani, M., & Abnous, K. 2018. Curcumin-entrapped MUC-1 aptamer targeted dendrimer-gold hybrid nanostructure as a theranostic system for colon adenocarcinoma. *International Journal of Pharmaceutics* 549: 67–75.
- Amalraj, A., Jude, S., Varma, K., Jacob, J., Gopi, S., Oluwafemi, O.S., & Thomas, S. 2017. Preparation of a novel bioavailable curcuminoid formulation (Cureit™) using Polar-Nonpolar-Sandwich (PNS) technology and its characterization and applications. *Materials Science and Engineering C* 75: 359–367.
- Amalraj, A., Pius, A., Gopi, S., & Gopi, S. 2017. Biological activities of curcuminoids, other biomolecules from turmeric and their derivatives – A review. *Journal of Traditional and Complementary Medicine* 7: 205–233.
- Anand, P., Kunnumakkara, A.B., Newman, R.A., Aggarwal, B.B., Anand, P., Kunnumakkara, A.B., & Newman, R.A. 2007. Bioavailability of curcumin: Problems and Promises. *Bioavailability of Curcumin : Problems and Promises reviews Bioavailability of Curcumin : Problems and Promises* 4: 807–818.
- Andreu Periz, L., & Force Sanmartín, E. 2001. *500 cuestiones que plantea el cuidado del enfermo renal*. Elsevier, España.
- Antony, B., Merina, B., Iyer, V., Judy, N., Lennertz, K., & Joyal, S. 2009. A pilot cross-over study to evaluate human oral bioavailability of BCM-95® CG (Biocurcumax™), a novel bioenhanced preparation of curcumin. *Indian Journal of Pharmaceutical Sciences* 70: 445.
- Apaydin Yildirim, B., Kordali, S., Terim Kapakin, K.A., Yildirim, F., Aktas Senocak, E., & Altun, S. 2017. Effect of *Helichrysum plicatum* DC. subsp. *plicatum* ethanol extract on gentamicin-induced nephrotoxicity in rats. *Journal of Zhejiang University-SCIENCE B* 18: 501–511.
- Badreldin, A., T., K., Y.A., S., M.A., Z., J.A., K., M., A., & A., N. 2017. The effect of swimming exercise on adenine-induced kidney disease in rats, and the influence of curcumin or lisinopril thereon. *PLoS ONE* 12: 1–20.
- Badreldin, A., Al-Wabel, N., Mahmoud, O., Mousa, H.M., & Hashad, M. 2005. Curcumin has a palliative action on gentamicin-induced nephrotoxicity in rats. *Fundamental and Clinical Pharmacology* 19: 473–477.
- Barathmanikant, S., Kalishwaralal, K., Sriram, M., Ram, S., Pandian, K., Youn, H., Eom, S., & Gurunathan, S. 2010. Anti-oxidant effect of gold nanoparticles

- restrains hyperglycemic conditions in diabetic mice.
- Beloqui, A., Coco, R., Memvanga, P.B., Ucakar, B., Des Rieux, A., & Pr at, V. 2014. PH-sensitive nanoparticles for colonic delivery of curcumin in inflammatory bowel disease. *International Journal of Pharmaceutics* 473: 203–212.
- Bishop, D.P., Chan, Y.L., Valenzuela, S.M., Milthorpe, B.K., McGrath, K., Chen, H., Oliver, B., Cortie, M.B., Ng, J.P.M., & Tan, Y. 2018. Gold nanoparticles improve metabolic profile of mice fed a high-fat diet. *Journal of Nanobiotechnology* 16: 1–12.
- Cardoso, P.E. 2011. Detecci n de anticuerpos mediante nanop rticulas met licas
- Chen, Y., & Burnett, J.C. 2018. Particulate guanylyl cyclase A/cGMP signaling pathway in the kidney: Physiologic and therapeutic indications. *International Journal of Molecular Sciences* 19:.
- Christensen, E., & Birn, H. 2001. Megalin and cubilin: synergistic endocytic receptors in renal proximal tubule. *American Journal of Physiology-Renal physiology* 280: 533–559.
- Connor, E.E., Mwamuka, J., Gole, A., Murphy, C.J., & Wyatt, M.D. 2005. Gold nanoparticles are taken up by human cells but do not cause acute cytotoxicity. *Small* 1: 325–327.
- ConsejoSalubridadGeneral. 2017. LISTA actualizada de las enfermedades que ocasionan gastos catastróficos. *Diario Oficial de la Federación*
- Contra, H.S., Estrada, L.R., Chávez, A.G., & Hernández y Hernández, H. 2008. El sistema renina-angiotensina-aldosterona y su papel funcional más allá del control de la presión arterial. *Revista Mexicana de Cardiologia* 19: 21–29.
- Cornejo, L. 2015. Resonancia del plasmón de la superficie (RPS); propiedades optoelectrónicas. *Nuevas tecnologías y materiales*.
- Eggold, J.T., & Rankin, E.B. 2019. Erythropoiesis, EPO, macrophages, and bone. *Bone* 119: 36–41.
- El-Maddawy, Z.K., & El-Sayed, Y.S. 2018. Comparative analysis of the protective effects of curcumin and N-acetyl cysteine against paracetamol-induced hepatic, renal, and testicular toxicity in Wistar rats. *Environmental Science and Pollution Research* 25: 3468–3479.
- El-Zawahry, B.H., & El Kheir, E.M.A. 2007. The Protective Effect of Curcumin Against Gentamicin-Induced Renal Dysfunction and Oxidative Stress in Male Albino Rats. *The Egyptian Journal of Hospital Medicine* 29: 546–556.
- Erdem, A., Gundogan, N., Usubutun, A., Kilinc, K., & Erdem, R. 2000. Nephrology Dialysis Transplantation The protective effect of taurine against gentamicin-induced acute tubular. *Nephrology Dialysis Transplantation* 15: 1175–1182.
- Espinosa, M. de los  . 2016. Enfermedad renal. *Gaceta Médica de México* 152:.
- Espinosa, A., Amezcua, A.I., Ruiz, P.C., Rodríguez, F., & Díaz, E. 2013. Nuevos marcadores de lesión renal aguda en el enfermo grave. *Medicina Interna de Mexico* 29: 513–517.
- Fadel, M., Kassab, K., Abd El Fadeel, D.A., Nasr, M., & El Ghoubari, N.M. 2018. Comparative enhancement of curcumin cytotoxic photodynamic activity by nanoliposomes and gold nanoparticles with pharmacological appraisal in HepG2 cancer cells and Erlich solid tumor model. *Drug Development and Industrial Pharmacy* 44: 1809–1816.

- Farombi, E.O., & Ekor, M. 2006. Curcumin attenuates gentamicin-induced renal oxidative damage in rats. *Food and Chemical Toxicology* 44: 1443–1448.
- FMR, F.M. del R. 2015. ERC.
- Freitas de Freitas, L., Varca, G., dos Santos Batista, J., & Benévolo Lugão, A. 2018. An Overview of the Synthesis of Gold Nanoparticles Using Radiation Technologies. *Nanomaterials* 8: 939.
- Gaínza De Los Ríos, F.J. 2012. Insuficiencia renal aguda. *Nefrología al día* 7: 309–334.
- Gopi, S., Jacob, J., Varma, K., Jude, S., Amalraj, A., Arundhathy, C.A., George, R., Sreeraj, T.R., Divya, C., Kunnumakkara, A.B., & Stohs, S.J. 2017. Comparative Oral Absorption of Curcumin in a Natural Turmeric Matrix with Two Other Curcumin Formulations: An Open-label Parallel-arm Study. *Phytotherapy Research* 31: 1883–1891.
- Gorostidi, M., Santamaría, R., Alcázar, R., Fernández, G., Oliveras, A., Portolés, J., Segura, J., & Aranda, P. 2017. Documento de la Sociedad Española de Nefrología sobre las guías KDIGO para la evaluación y el tratamiento de la enfermedad renal crónica. *Revista Nefrología* 15: 145–156.
- Gupta, S.C., Patchva, S., & Aggarwal, B.B. 2012. Therapeutic Roles of Curcumin: Lessons Learned from Clinical Trials. *The AAPS Journal* 15: 195–218.
- Guyton, A., & Hall, J. 2016. *Tratado de fisiología médica*. Elsevier Saunders, España.
- He, L., Peng, X., Zhu, J., Liu, G., Chen, X., & Tang, C. 2015. Protective Effects of Curcumin on Acute Gentamicin-Induced Nephrotoxicity in Rats. *Health (San Francisco)* 1–27.
- Heidarian, E., Jafari-Dehkordi, E., Valipour, P., Ghatreh-Samani, K., & Ashrafi-Eshkaftaki, L. 2017. Nephroprotective and Anti-Inflammatory Effects of Pistacia atlantica Leaf Hydroethanolic Extract Against Gentamicin-Induced Nephrotoxicity in Rats. *Journal of Dietary Supplements* 14: 489–502.
- Hewlings, S., & Kalman, D. 2017. Curcumin: A Review of Its' Effects on Human Health. *Foods* 6: 92.
- Hismiogullari, A.A., Hismiogullari, S.E., Karaca, O., Sunay, F.B., Paksoy, S., Can, M., Kus, I., Seyrek, K., & Yavuz, O. 2015. The protective effect of curcumin administration on carbon tetrachloride (CCl₄)-induced nephrotoxicity in rats. *Pharmacological Reports* 67: 410–416.
- Hoshikawa, A., Nagira, M., Tane, M., Fukushige, K., Tagami, T., & Ozeki, T. 2018. Preparation of Curcumin-Containing alpha-, beta-, and gamma-Cyclodextrin/Polyethyleneglycol-Conjugated Gold Multifunctional Nanoparticles and Their in Vitro Cytotoxic Effects on A549 Cells. *Biological & pharmaceutical bulletin* 41: 908–914.
- Huang, Y., Hu, L., Huang, S., Xu, W., Wan, J., Wang, D., Zheng, G., & Xia, Z. 2018. Curcumin-loaded galactosylated BSA nanoparticles as targeted drug delivery carriers inhibit hepatocellular carcinoma cell proliferation and migration. *International Journal of Nanomedicine* 13: 8309–8323.
- Ibrahim, K.E., Al-Mutary, M.G., Bakhiet, A.O., & Khan, H.A. 2018. Histopathology of the liver, kidney, and spleen of mice exposed to gold nanoparticles. *Molecules* 23:.
- Inostroza-Riquelme, M., Vivanco, A., Lara, P., Guerrero, S., Salas-Huenuleo, E., Chamorro, A., Leyton, L., Bola os, K., Araya, E., Quest, A.F.G., Kogan, M.J., &

- Oyarzun-Ampuero, F. 2018. Encapsulation of gold nanostructures and oil-in-water nanocarriers in microgels with biomedical potential. *Molecules* 23:.
- Jäger, R., Lowery, R.P., Calvanese, A. V., Joy, J.M., Purpura, M., & Wilson, J.M. 2014. Comparative absorption of curcumin formulations. *Nutrition Journal* 13:.
- Karaman, M., Budak, H., & Çiftci, M. 2018. Amoxicillin and gentamicin antibiotics treatment adversely influence the fertility and morphology through decreasing the Dazl gene expression level and increasing the oxidative stress. *Archives of Physiology and Biochemistry* 0: 1–9.
- Kelava, T., Cavar, I., & Culo, F. 2011. Biological actions of drug solvents TOMISLAV. *IRYO - Japanese Journal of National Medical Services* 50: 398–401.
- Khan, H.A., Alamery, S., Ibrahim, K.E., El-Nagar, D.M., Al-Harbi, N., Rusop, M., & Alrokayan, S.H. 2019. Size and time-dependent induction of proinflammatory cytokines expression in brains of mice treated with gold nanoparticles. *Saudi Journal of Biological Sciences* 26: 625–631.
- Kidney Disease: Improving Global Outcomes (KDIGO). 2017. Erratum: Kidney Disease: Improving Global Outcomes (KDIGO) CKD-MBD Update Work Group. KDIGO 2017 Clinical Practice Guideline Update for the Diagnosis, Evaluation, Prevention, and Treatment of Chronic Kidney Disease–Mineral and Bone Disorder (CKD-MBD). (Ki. *Kidney International Supplements* 7: e1.
- Kim, S.Y., & Moon, A. 2012. Drug-induced nephrotoxicity and its biomarkers. *Biomolecules and Therapeutics* 20: 268–272.
- Kimling, J., Maier, M., Okenve, B., Kotaidis, V., Ballot, H., & Plech, A. 2006. Turkevich method for gold nanoparticle synthesis revisited. *Journal of Physical Chemistry B* 110: 15700–15707.
- Kocher, A., Bohnert, L., Schiborr, C., & Frank, J. 2016. Highly bioavailable micellar curcuminoids accumulate in blood, are safe and do not reduce blood lipids and inflammation markers in moderately hyperlipidemic individuals. *Molecular Nutrition and Food Research* 60: 1555–1563.
- Kocher, A., Schiborr, C., Behnam, D., & Frank, J. 2015. The oral bioavailability of curcuminoids in healthy humans is markedly enhanced by micellar solubilisation but not further improved by simultaneous ingestion of sesamin, ferulic acid, naringenin and xanthohumol. *Journal of Functional Foods* 14: 183–191.
- Krishnakumar, I.M., Ravi, A., Kumar, D., Kuttan, R., & Maliakel, B. 2012. An enhanced bioavailable formulation of curcumin using fenugreek-derived soluble dietary fibre. *Journal of Functional Foods* 4: 348–357.
- Kunnumakkara, A.B., Bordoloi, D., Padmavathi, G., Monisha, J., Roy, N.K., Prasad, S., & Aggarwal, B.B. 2017. Curcumin, the golden nutraceutical: multitargeting for multiple chronic diseases. *British Journal of Pharmacology* 174: 1325–1348.
- León Goñi, A.C., Blanco, D., Peña, A., Ronda, M., González, B.O., Arteaga, M.E., Bada, A.M., González, Y., & Mancebo, A. 2011. Valores hematológicos y bioquímicos de las ratas Sprague Dawley producidas en CENPALAB , Cenp : SPRD (Hematological and biochemical parameters in Sprague Dawley laboratory rats breed in CENPALAB , Cenp : SPRD). *Revista Electrónica de Veterinaria* 12: 1–10.
- Liu, R., Pei, Q., Shou, T., Zhang, W., Hu, J., & Li, W. 2019. Apoptotic effect of

- green synthesized gold nanoparticles from *Curcuma wenyujin* extract against human renal cell carcinoma A498 cells. *International Journal of Nanomedicine* Volume 14: 4091–4103.
- Lopez-Novoa, J.M., Quiros, Y., Vicente, L., Morales, A.I., & Lopez-Hernandez, F.J. 2011. New insights into the mechanism of aminoglycoside nephrotoxicity: An integrative point of view. *Kidney International* 79: 33–45.
- Mahmoud, Y.I. 2017. Kiwi fruit (*Actinidia deliciosa*) ameliorates gentamicin-induced nephrotoxicity in albino mice via the activation of Nrf2 and the inhibition of NF- κ B (Kiwi & gentamicin-induced nephrotoxicity). *Biomedicine and Pharmacotherapy* 94: 206–218.
- Mahmoud, A.M., Ahmed, O.M., & Galaly, S.R. 2014. Thymoquinone and curcumin attenuate gentamicin-induced renal oxidative stress, inflammation and apoptosis in rats. *EXCLI Journal* 13: 98–110.
- Manikandan, R., Beulaja, M., Thiagarajan, R., Priyadarsini, A., Saravanan, R., & Arumugam, M. 2011. Ameliorative effects of curcumin against renal injuries mediated by inducible nitric oxide synthase and nuclear factor kappa B during gentamicin-induced toxicity in Wistar rats. *European Journal of Pharmacology* 670: 578–585.
- Manju, S., & Sreenivasan, K. 2012. Gold nanoparticles generated and stabilized by water soluble curcumin-polymer conjugate: Blood compatibility evaluation and targeted drug delivery onto cancer cells. *Journal of Colloid and Interface Science* 368: 144–151.
- Marczylo, T.H., Verschoyle, R.D., Cooke, D.N., Morazzoni, P., Steward, W.P., & Gescher, A.J. 2007. Comparison of systemic availability of curcumin with that of curcumin formulated with phosphatidylcholine. *Cancer Chemotherapy and Pharmacology* 60: 171–177.
- Mihai, M., Dima, M., Dima, B., & Holban, A. 2019. Nanomaterials for Wound Healing and Infection Control. *StatPearls*
- Monroy, L.E., & Vargas, M.P.S. 2010. Anhidrasa carbónica, nuevas perspectivas. *Revista del Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias* 69: 200–209.
- Moreillon, J.J., Bowden, R.G., Deike, E., Griggs, J., Wilson, R., Shelmadine, B., Cooke, M., & Beaujean, A. 2013. The use of an anti-inflammatory supplement in patients with chronic kidney disease. *Journal of complementary & integrative medicine* 10: 143–152.
- Moreira Galdino, P., Nunes Alexandre, L., Fernanda Pacheco, L., de Souza Lino Junior, R., de Paula, J.R., Rodrigues Pedrino, G., Henrique Xavier, C., & Maria Ferreira, P. 2017. Nephroprotective effect of *Rudgea viburnoides* (Cham.) Benth leaves on gentamicin-induced nephrotoxicity in rats. *Journal of Ethnopharmacology* 201: 100–107.
- Moskot, M., Jakóbkiewicz-Banecka, J., Kloska, A., Piotrowska, E., Narajczyk, M., & Gabig-Cimińska, M. 2019. The role of dimethyl sulfoxide (DMSO) in gene expression modulation and glycosaminoglycan metabolism in lysosomal storage disorders on an example of mucopolysaccharidosis. *International Journal of Molecular Sciences* 20:.
- Negrette-Guzmán, M., García-Niño, W.R., Tapia, E., Zazueta, C., Huerta-Yepez, S., León-Contreras, J.C., Hernández-Pando, R., Aparicio-Trejo, O.E., Madero, M., & Pedraza-Chaverri, J. 2015. Curcumin Attenuates Gentamicin-Induced Kidney Mitochondrial Alterations: Possible Role of a Mitochondrial Biogenesis

- Mechanism. *Evidence-based Complementary and Alternative Medicine* 2015:.
- Nguyen, N.T., Nguyen, N.N.T., Tran, N.T.N., Le, P.N., Nguyen, T.B.T., Nguyen, N.H., Bach, L.G., Doan, V.N., Tran, H.L.B., Le, V.T., & Tran, N.Q. 2018. Synergic activity against MCF-7 breast cancer cell growth of nanocurcumin-encapsulated and cisplatin-complexed nanogels. *Molecules* 23:.
- OMS, Organización Municipal de la Salud y OPS, O.P. de la S. 2015. La OPS/OMS y la Sociedad Latinoamericana de Nefrología llaman a prevenir la enfermedad renal y a mejorar el acceso al tratamiento.
- Pawar, Y.B., Munjal, B., Arora, S., Karwa, M., Kohli, G., Paliwal, J.K., & Bansal, A.K. 2012. Bioavailability of a lipidic formulation of curcumin in healthy human volunteers. *Pharmaceutics* 4: 517–530.
- Perazzi, B., & Angerosa, M. 2011. Creatinina en sangre : calidad analítica e influencia en la estimación del Índice de Filtrado Glomerular Creatinine in blood : analytical quality Glomerular R esumen. *Acta Bioquímica Clínica Latinoamericana* 45: 265–272.
- Priyadarsini, K.I. 2014. The chemistry of curcumin: From extraction to therapeutic agent. *Molecules* 19: 20091–20112.
- Rahimi-Moghaddam, F., Azarpira, N., & Sattarahmady, N. 2018. Evaluation of a nanocomposite of PEG-curcumin-gold nanoparticles as a near-infrared photothermal agent: an in vitro and animal model investigation. *Lasers in Medical Science* 33: 1769–1779.
- Rajakrishnan, R., Lekshmi, R., Benil, P.B., Thomas, J., AlFarhan, A.H., Rakesh, V., & Khalaf, S. 2017. Phytochemical evaluation of roots of *Plumbago zeylanica* L. and assessment of its potential as a nephroprotective agent. *Saudi Journal of Biological Sciences* 24: 760–766.
- Ravi Shukla, †, Vipul Bansal, ‡, Minakshi Chaudhary, ‡, Atanu Basu, §, Ramesh R. Bhonde, *, A., & Murali Sastry*, ‡. 2005. Biocompatibility of Gold Nanoparticles and Their Endocytotic Fate Inside the Cellular Compartment: A Microscopic Overview. *Langmuir* 21: 10644–10654.
- Repetto, H. 2014. Hormona antidiurética, 2014. *Archivos Argentinos de Pediatría* 112: 153–159.
- Reshi, M.S., Shrivastava, S., Jaswal, A., Sinha, N., Uthra, C., & Shukla, S. 2017. Gold nanoparticles ameliorate acetaminophen induced hepato-renal injury in rats. *Experimental and Toxicologic Pathology* 69: 231–240.
- Rivadeneira-Domínguez, E., Becerra-Contreras, Y., Vázquez-Luna, A., Díaz-Sobac, R., & Rodríguez-Landa, J.F. 2018. Alterations of blood chemistry, hepatic and renal function, and blood cytometry in acrylamide-treated rats. *Toxicology Reports* 5: 1124–1128.
- Schiborr, C., Kocher, A., Behnam, D., Jandasek, J., Toelstede, S., & Frank, J. 2014. The oral bioavailability of curcumin from micronized powder and liquid micelles is significantly increased in healthy humans and differs between sexes. *Molecular Nutrition and Food Research* 58: 516–527.
- Segura, J., & Ruilope, L.M. 2013. Contribución del riñón en la homeostasis de la glucosa. *Medicina Clínica* 141: 26–30.
- Sellarés, V. 2012. Enfermedad renal crónica.
- Shah, N.A., Khan, M.R., & Nigussie, D. 2017. Phytochemical investigation and nephroprotective potential of *Sida cordata* in rat. *BMC Complementary and Alternative Medicine* 17:.

- Shelmadine, B.D., Bowden, R.G., Moreillon, J.J., Wilson, R.L., Cooke, M.B., Griggs, J.O., Yang, P., & Deike, E. 2017. A Pilot Study to Examine the Effects of an Anti-inflammatory Supplement on Eicosanoid Derivatives in Patients with Chronic Kidney Disease. *The Journal of Alternative and Complementary Medicine* 23: 632–638.
- Shukla, P., Dwivedi, P., Gupta, P.K., & Mishra, P.R. 2014. Optimization of novel tocopheryl acetate nanoemulsions for parenteral delivery of curcumin for therapeutic intervention of sepsis. *Expert Opinion on Drug Delivery* 11: 1697–1712.
- Singh, S.P., Alvi, S.B., Pemmaraju, D.B., Singh, A.D., Manda, S.V., Srivastava, R., & Rengan, A.K. 2018. NIR triggered liposome gold nanoparticles entrapping curcumin as in situ adjuvant for photothermal treatment of skin cancer. *International Journal of Biological Macromolecules* 110: 375–382.
- Singh, N., Khullar, N., Kakkar, V., & Kaur, I.P. 2014. Attenuation of carbon tetrachloride-induced hepatic injury with curcumin-loaded solid lipid nanoparticles. *BioDrugs* 28: 297–312.
- Singh, A.K., Ramzan, M., Gupta, S., Younus, M., & Jiang, Y. 2013. Anti-Inflammatory Potency of Nano-Formulated Puerarin and Curcumin in Rats Subjected to the Lipopolysaccharide-Induced Inflammation. *Journal of Medicinal Food* 16: 899–911.
- Skoog, D., Holler, J., & Nieman, T. 2001. *Principios y análisis instrumental*. Mc Graw Hill, Madrid.
- Sodimbaku, V., Pujari, L., Mullangi, R., & Marri, S. 2016. Carrot (*Daucus carota* L.): Nephroprotective against gentamicin-induced nephrotoxicity in rats. *Indian Journal of Pharmacology* 48: 122.
- Sparks, M.A., Crowley, S.D., Gurley, S.B., Mirotsov, M., & Coffman, T.M. 2014. Classical Renin-Angiotensin system in kidney physiology. *Comprehensive Physiology* 4: 1201–28.
- Stohs, S.J., Ji, J., Bucci, L.R., & Preuss, H.G. 2018. A Comparative Pharmacokinetic Assessment of a Novel Highly Bioavailable Curcumin Formulation with 95% Curcumin: A Randomized, Double-Blind, Crossover Study. *Journal of the American College of Nutrition* 37: 51–59.
- Al Suleimani, Y.M., Abdelrahman, A.M., Karaca, T., Manoj, P., Ashique, M., Nemmar, A., & Ali, B.H. 2018. The effect of the dipeptidyl peptidase-4 inhibitor sitagliptin on gentamicin nephrotoxicity in mice. *Biomedicine and Pharmacotherapy* 97: 1102–1108.
- Sun, H., Yang, H., Ruan, H., Li, W., He, X., Wang, L., Liu, F., & Zhang, J. 2018. The Protective Effect of Sika Deer Antler Protein on Gentamicin-Induced Nephrotoxicity in Vitro and in Vivo. *Cellular Physiology and Biochemistry* 50: 841–850.
- Sun, D., Zhuang, X., Xiang, X., Liu, Y., Zhang, S., Liu, C., Barnes, S., Grizzle, W., Miller, D., & Zhang, H.G. 2010. A novel nanoparticle drug delivery system: The anti-inflammatory activity of curcumin is enhanced when encapsulated in exosomes. *Molecular Therapy* 18: 1606–1614.
- Torres, F., Pilar, M., & González, R. 2011. *Metodología y técnicas de trabajo en el laboratorio de anatomía patológica. Errores frecuentes y su solución*. Editorial Fesitess Andalucía, Andalucía.
- Tortora, G., & Derrickson, B. 2013. *Principios de Anatomía y Fisiología*. Editorial

- Médica Panamericana, España.
- Udupa, V., & Prakash, V. 2018. Gentamicin induced acute renal damage and its evaluation using urinary biomarkers in rats. *Toxicology Reports* 6: 91–99.
- Varga, M. 2013. *Textbook of Rabbit Medicine*. Butterworth Heinemann.
- Vásquez, L. 2010. EFECTO DEL DIMETILSULFÓXIDO (DMSO) SOBRE LA APOPTOSIS Y DAÑO RENAL EN UN MODELO ANIMAL DE ISQUEMIA-REPERFUSIÓN.
- Vergara-Castaneda, H., Granados-Segura, L.O., Luna-Bárceñas, G., McClements, D.J., Herrera-Hernández, M.G., Arjona, N., Hernández-Martínez, A.R., Estevez, M., & Pool, H. 2019. Gold nanoparticles bio-reduced by natural extracts of arantho (*Kalanchoe daigremontiana*) for biological purposes: Physicochemical, antioxidant and antiproliferative evaluations. *Materials Research Express* 6: 55010.
- Vijayakumar, V., Samal, S.K., Mohanty, S., & Nayak, S.K. 2018. Recent advancements in biopolymer and metal nanoparticle-based materials in diabetic wound healing management. *International Journal of Biological Macromolecules* 122: 137–148.
- Vysakh, A., Abhilash, S., Kuriakose, J., Midhun, S.J., Jyothis, M., & Latha, M.S. 2018. Protective effect of *Rotula aquatica* Lour against gentamicin induced oxidative stress and nephrotoxicity in Wistar rats. *Biomedicine and Pharmacotherapy* 106: 1188–1194.
- Walker, H., Hall, W., & Hurst, J. 1990. *Clinical Methods: The History, Physical, and Laboratory Examinations*. Butterworths, Atlanta.
- Wang, J., Wang, H., Zhu, R., Liu, Q., Fei, J., & Wang, S. 2015. Anti-inflammatory activity of curcumin-loaded solid lipid nanoparticles in IL-1 β transgenic mice subjected to the lipopolysaccharide-induced sepsis. *Biomaterials* 53: 475–483.
- Wuithschick, M., Birnbaum, A., Witte, S., Sztucki, M., Vainio, U., Pinna, N., Rademann, K., Emmerling, F., Kraehnert, R., & Polte, J. 2015. Turkevich in New Robes: Key Questions Answered for the Most Common Gold Nanoparticle Synthesis. *ACS Nano* 9: 7052–7071.
- Yallapu, M.M., Nagesh, P.K.B., Jaggi, M., & Chauhan, S.C. 2015. Therapeutic Applications of Curcumin Nanoformulations. *The AAPS Journal* 17: 1341–1356.
- Yeh, Y.-C., Creran, B., & Rotello, V. 2012. Gold Nanoparticles: Preparation, Properties, and Applications in Bionanotechnology. *Nanoscale* 6: 1029–1031.

Consultas Internet

BioSystems (2006). UREA/BUN – COLOR. Recuperado el 20 de octubre del 2017 de:

<http://www.biosimex.com.mx/pdf/insertos/QUIMICA%20CLINICA/11536%2011537.pdf>

Buendía, E. (2017). Males renales son una castástrofe económica. Recuperado el 29 de agosto del 2017 de:

<https://www.pressreader.com/mexico/el-universal/20170129/281522225810481>

CSG, Consejo de Salubridad General (2017). Lista Actualizada de las enfermedades que ocasionan gastos catastróficos. Recuperado el 29 de agosto del 2017 de:

http://www.csg.gob.mx/descargas/pdfs/gastos_catastroficos/LISTADO_AC_TUALIZADO_ENFERMEDADES.pdf

EIValle (2016). Cubre seguro popular costo de diálisis y hemodiálisis. Recuperado el 20 de octubre del 2017 de:

<http://elvalle.com.mx/cubre-seguro-popular-costo-de-dialisis-y-hemodialisis>

FMR, Fundación Mexicana del Riñón (2015). ERC. Recuperado el 29 de agosto del 2017 de:

<http://www.fundrenal.org.mx/erc.html>

OMS, Organización Mundial de la Salud y OPS, Organización Panamericana de la Salud [OPS] (2015). La OPS/OMS y la Sociedad Latinoamericana de Nefrología llaman a prevenir la enfermedad renal y a mejorar el acceso al tratamiento. Recuperado el 29 agosto del 2017 de:

http://www.paho.org/hq/index.php?option=com_content&view=article&id=10542%3A2015-opsoms-sociedad-latinoamericana-nefrologia-enfermedad-renal-mejorar-tratamiento&Itemid=1926&lang=es

Anexos (Carta del comité de bioética)



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE QUERÉTARO
FACULTAD DE QUÍMICA

C.U., Querétaro, 27 de Abril de 2018
No. de oficio. CBQ18/029


Dr. Juan Carlos Solís Sáinz
Facultad de Química
Presente

AT'N: Ing. Biotecnología Mario Adrián Tienda Vázquez

Nos permitimos hacer de su conocimiento que, en reunión del Comité de Bioética de la Facultad de Química de la Universidad Autónoma de Querétaro, con objeto de llevar a cabo la revisión de propuesta de investigación, el protocolo titulado **Incremento del efecto nefroprotector de curcumina por nanopartículas de oro en modelo murino de nefrotoxicidad renal inducido por gentamicina** del cual usted es responsable fue evaluado, con la resolución de **aprobado**.

Sin más por el momento, quedamos a sus órdenes para cualquier duda o aclaración.


Dr. Edmundo Mercado Silva
Representante Investigador


Dra. Minerva Ramos Gómez
Secretaria



Ccp archivo

Centro Universitario, Cerro de las Campanas, Santiago de Querétaro, Qro., México C.P. 76010
Tel. 01 (442) 192 12 67 Fax 192 13 02