



Métodos diagnósticos para la identificación del ácido aristolóquico en muestras biológicas: Revisión Narrativa.

Daniela Jhulissa Rivas-Saca ¹, Lorena Viviana Mora Bravo ², Kerly Samantha Saquipay-Nieves ².

1. Red Complementaria de Salud del Azuay, Cuenca, Ecuador.
2. Departamento de Bioquímica y Farmacia, Facultad de Ciencias Químicas, Universidad de Cuenca.

Recibido: Noviembre 11, 2024.

Aceptado: Febrero 7, 2025.

Publicado: Febrero 8, 2025.

Editor: Dr. Franklin Mora Bravo.

Como citar:

Rivas-Saca D, Mora-Bravo L, Saquipay-Nieves K. Métodos diagnósticos para la identificación del ácido aristolóquico en muestras biológicas: Revisión Narrativa. REV SEN 2025;13(1):1-10.

DOI: <http://doi.org/10.56867/96>

Sociedad Ecuatoriana de Nefrología, Diálisis y Trasplantes.

ISSN-L: 2953-6448

Copyright 2025, Daniela Jhulissa Rivas-Saca, Lorena Viviana Mora Bravo, Kerly Samantha Saquipay-Nieves. This article is distributed under the [Creative Commons CC BY-NC-SA 4.0 Attribution License](https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/), which allows the use and redistribution of the article, citing the source and the original author for non-commercial purposes.

Resumen

Introducción: El ácido aristolóquico (AA) proviene de la familia *Aristolochia* y ha sido ampliamente utilizado como medicina herbal como intento de tratamiento de diversas enfermedades. Sin embargo, la Agencia Internacional para la investigación del Cáncer y la Agencia Europea para la Evaluación de Medicamentos (EMA) establecieron al ácido aristolóquico por su nefrotoxicidad y carcinogenicidad como un carcinógeno del grupo I, restringiendo así su consumo.

Objetivo de la revisión: Este artículo es una revisión narrativa, cuyo objetivo es realizar una revisión sistemática de los métodos diagnósticos para la detección del ácido aristolóquico en el organismo, con el fin de establecer un diagnóstico más preciso respecto a las patologías inducidas por su consumo.

Puntos importantes de la revisión:

Durante la biotransformación de AA, se forman aductos AA-ADN, los cuales son altamente mutagénicos y bloquean la replicación del ADN. Estos aductos son reconocidos como biomarcadores de alta especificidad.

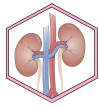
Dentro de los métodos para la identificación del ácido aristolóquico se encuentran: la secuenciación de nueva generación (WGS), estrategia espectroscópica dual, UPLC-MS/MS, PCR dependiente de transferasa terminal y la resonancia magnética paramétrica.

Conclusión: Estos métodos presentan enfoques experimentales y son de gran relevancia para la comunidad científica. Sin embargo, la implementación de estos métodos sigue siendo un desafío por los recursos requeridos.

Palabras clave:

Ácido aristolóquico, Nefropatía, Carcinoma, métodos diagnósticos.

* Autor de correspondencia



Diagnostic methods for identifying aristolochic acid in biological samples: Narrative Review.

Abstract

Introduction: Aristolochic acid (AA) is derived from the *Aristolochia* family and has been widely utilized as herbal medicine for treating various diseases. However, the International Agency for Research on Cancer and the European Medicines Agency (EMA) have classified aristolochic acid as a Group 1 carcinogen due to its nephrotoxicity and carcinogenic properties, thereby restricting its use.

Objective of the review: This article is a narrative review whose objective is to carry out a systematic review of the diagnostic methods for detecting aristolochic acid in the body. The goal is to establish a more precise diagnosis regarding the pathologies induced by its consumption.

Important points: During the biotransformation of AA, AA-DNA adducts are formed, which are highly mutagenic and inhibit DNA replication. These adducts are recognized as specific biomarkers. Among the methods for identifying aristolochic acid are: next-generation sequencing (WGS), dual spectroscopic strategy, UPLC-MS/MS, terminal transferase-dependent PCR, and parametric magnetic resonance.

Conclusion: These methods offer experimental approaches that are relevant to the scientific community. However, executing these methods continues to be challenging due to the resources needed.

Keywords:

Aristolochic acid, nephropathy, carcinoma, diagnostic methods.

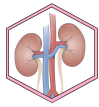
El ácido aristolóquico (AA) forma parte de la familia de ácidos carboxílicos de nitrofenantreno que abunda en plantas de la familia *Aristolochia* [1]. Su empleo data de miles de años atrás, siendo el registro más importante en la década de 1990, puesto que fue utilizado como medicina herbal para bajar de peso, artritis, inflamación y gota. Sin embargo, un porcentaje considerable de personas que lo consumieron desarrollaron lesiones renales [2]. En EEUU, La Agencia Internacional para la investigación del Cáncer y la Agencia Europea para la Evaluación de Medicamentos, establecieron al ácido aristolóquico por su nefrotoxicidad y carcinogenicidad como un carcinógeno del grupo 1, por lo que se ha prohibido el consumo de medicamentos que contengan este compuesto [3, 4].

La biotransformación del ácido aristolóquico es un proceso complejo, en el cual el ADN sufre múltiples mutaciones y pérdidas en los genes supresores. Se ha determinado que el ácido aristolóquico posee una firma mutacional denominada firma COSMIC 22, esta se caracteriza por transversiones no reversibles que producen un daño continuo y dan paso a daños en múltiples órganos [3, 4]. En

consecuencia a su alta toxicidad se han desarrollado diversas investigaciones, logrando así establecer métodos diagnósticos que permiten la identificación de este ácido mediante muestras biológicas de personas y animales con sospecha de enfermedad. No obstante, el desarrollo de estudios más amplios se ha visto limitado por la necesidad de una gran cantidad de recursos.

Al considerar el elevado consumo de hierbas medicinales que contienen AA y el continuo aumento en la cantidad de pacientes que presentan enfermedades nefrológicas, se destaca la importancia de adquirir conocimiento acerca de los métodos diagnósticos. De esta manera se permitiría su posterior aplicación con el objetivo de garantizar diagnósticos precisos y oportunos.

A través de una revisión bibliográfica, se realizaron búsquedas en PubMed, Scopus, Wiley Online Library, Springer Nature y Google Académico, utilizando términos como ácido aristolóquico, métodos diagnósticos/ diagnóstico, así como las listas de referencias de artículos relevantes. Se consideraron estudios publicados desde 1990 hasta la actualidad, en inglés y español. Además, la información



recopilada a través de las bases de datos es esencialmente de tipo experimental, debido a que no existe un protocolo establecido para la identificación del ácido aristolóquico. Las opiniones ofrecidas son el resultado de un consenso tras revisar una amplia cantidad de investigaciones clínicas y científicas.

Biotransformación

Mediante estudios se ha demostrado que el ácido 8-metoxi-6-nitrofenantro-[3,4-d]-1,3-dioxol-5-carboxílico (ácido aristolóquico I, AAI) y su derivado 8-desmetoxilado (ácido aristolóquico II, AAI) [5] presentes en varias plantas herbáceas son responsables de la nefropatía por ácido aristolóquico (AAN) [5-8].

La biotransformación de AA se ha investigado analizando los tejidos de pacientes con AAN [5, 9]. Los principales aductos de ADN producidos por el ácido aristolóquico (AA-ADN) encontrados en roedores expuestos a AA y en pacientes que padecían AAN se identificaron como 7-(desoxiadenosina-N-6-il) aristolactama I (dA-AAI), 7-(desoxiguanosina-N-6-il) aristolactama I (dG-AAI) y 7-(desoxiadenosina-N-6-il) aristolactama II (dA-AAII) [10].

En la fase I, el AA se transforman en N-hidroxiaristolactamas debido a la nitrorreducción, luego se convierte en ion nitrenio aristolactama y se unen a las purinas en el ADN, desarrollándose mutaciones de pérdida de función en el gen supresor de tumores llamado TP53 y mutaciones de tipo funcional en los oncogenes FGFR3 y H-RAS. Estos aductos de aristolactama tienen una vida larga por lo que están presentes en la corteza renal durante muchos años y esto facilita la presencia continua del AA [1, 11, 12].

Los aductos de ADN provenientes del AA son reconocidos como biomarcadores de alta especificidad. Estos son altamente mutagénicos y bloquean la replicación del ADN. Además, tienen una firma mutacional que se caracteriza por transversiones de A→T en tejidos tumorales del carcinoma urotelial del tracto superior. Estos aductos son persistentes en los seres humanos por la falta de reconocimiento de la reparación global de la escisión de nucleótidos del genoma y en consecuencia las transversiones predominantes A→T podrían desarrollar con mayor frecuencia [11, 13]. Estos biomarcadores se utilizan para investigar los efectos mutagénicos y cancerígenos del AA. Por lo tanto, su detección es crucial para evaluar el riesgo de la enfermedad [14].

No todas las personas que consumen el AA tendrán repercusiones en su salud a largo plazo, esto podría ser resultado de diferencias como el sexo, la edad, factores genéticos y dosis empleada, produciendo toxicidad con el consumo de una única dosis alta o con varias dosis pequeñas de manera continua. Sin embargo, la susceptibilidad a este ácido también tendría conexión con diferencias individuales como las enzimas que catabolizan la biotransformación del AA; a nivel del hígado el AA se metabolizan en dos condiciones si es anaeróbica corresponde con aristolactamas I y II, pero en condiciones aeróbicas el metabolito encontrado es el derivado de O-desmetilado [1]. Dentro del complejo metabolismo del AA la enzima con mayor relevancia que activa el AA se denomina NAD(P)H: quinona

oxidoreductasa (NQO1) dentro de la fracción subcelular citosólica hepática y renal, otras enzimas que también se involucran, pero en menor cuantía son el citocromo P450 (CYP) 1A1/2 microsomal hepático y la NADPH: CYP reductasa (POR) microsomal renal que reducen el AA. Además, se han identificado factores que influyen en la expresión y la actividad de estas enzimas como polimorfismos genéticos, fármacos, tabaquismo, contaminación ambiental y química lo cual explicaría la susceptibilidad de cada persona con respecto al AA [1].

En la fase II los metabolitos formados por sulfatación producen aductos AA-ADN, estos conjugados de sulfatos se transportan fuera del hígado por medio de transportadores de membrana MRP y se dirigen hacia el riñón a través de transportadores aniónicos orgánicos (OAT), especialmente los OAT1 Y OAT3 que facilitan la captación del ácido aristolóquico por las células renales lo que causa el daño renal inducida por la selectividad del sitio a este ácido (5). Asimismo, en esta fase, se produce una reducción del metabolismo NQO1, lo cual es facilitado por la sulfonación SULT1B1 después de la nitroreducción lo que aumenta significativamente el potencial de mutación a nivel de las células y citotóxico del ácido aristolóquico [7]. Las lesiones producidas durante la biotransformación de AA son progresivas y los eventos mutacionales no son reversibles, por lo tanto, no se ha establecido un régimen terapéutico que demuestra una eficacia comprobable [11].

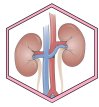
Patologías inducidas por AA

La exposición prolongada a alimentos que contengan AA o similares son considerados como factor riesgo para el desarrollo de la nefropatía grave, carcinoma urotelial del tracto superior, cánceres hepatobiliares y de otros tipos (8, 9). En un estudio se evaluó el tejido de 9 pacientes que presentaban cáncer del tracto urinario superior y que previamente habían ingerido agripalma, donde se encontró alrededor de 1500 genes con alteraciones genéticas dando lugar a su propia huella genética, siendo una de las huellas genéticas más complejas en comparación con huellas del cáncer de pulmón y de la piel, denominándose firma 22 en COSMIC, la cual posee un potencial de “huellas dactilares moleculares” en el carcinoma urotelial del tracto superior y otros tipos de cáncer [15, 16].

Estudios recientes han demostrado relación entre la nefrotoxicidad y carcinogenicidad con este ácido, la posible causa se debería a los efectos tóxicos del ácido aristolóquico sobre las células epiteliales tubulares proximales induciendo la secreción de citocinas y la síntesis de la matriz extracelular y del nuevo cambio epitelial miofibroblástico [17].

Nefropatía por ácido aristolóquico

Se relaciona en más de la mitad de los casos con el carcinoma urotelial del tracto superior. Esta insuficiencia presenta fibrosis intersticial extensa con atrofia, además de la pérdida de túbulos e hiperplasia en el urotelio localizado en la corteza superficial [11].



La nefropatía por AA tiene una progresión rápida hacia la enfermedad renal terminal, la mayor parte de casos poseen un cuadro clínico caracterizado por hipertensión leve, aumento de la creatinina sérica, proteinuria, anemia grave, leucocituria, glucosuria y una disminución de la tasa de filtrado glomerular, incluso en estudios más recientes se ha verificado que la microalbuminuria y la proteinuria de tipo tubular son marcadores para la detección oportuna de nefropatía por AA [11].

Nefropatía endémica de los Balcanes

Es una enfermedad renal crónica familiar endémica no hereditaria la cual progresa lentamente frecuentemente hacia el carcinoma urotelial del tracto superior, esta enfermedad tiene una prevalencia mayor en las aldeas agrícolas del río Danubio [11]. Se ha establecido un vínculo definitivo entre la BEN y el AA puesto que esta enfermedad se ha evidenciado aductos de ADN derivados de AA (AA-ADN) y en los tejidos uroteliales y corticales renales debido a transversiones distintivas A→T [11]. Entre los signos más importantes que presenta esta enfermedad son la disfunción tubular con una excreción aumentada de las proteínas de bajo peso molecular, glucosuria, hipertensión arterial, amino aciduria y disminución del filtrado glomerular [18].

Carcinoma urotelial superior

Se define con un subconjunto de neoplasias malignas uroteliales localizadas en la pelvis renal y el uréter superior; tiene múltiples causas tanto genéticas hereditarias como ambientales, dentro de estas se la ha relacionado con la intoxicación por AA y la mayor parte de los casos se ha encontrado durante las inspecciones de nefropatía por AA [11]. Este tipo de carcinomas uroteliales son generalmente de tipo bilateral sincrónico o en otros casos contralateral metacrónico, Además, se presenta de la misma manera aductos AA-ADN y las mutaciones de TP53.

Otras patologías

Los pacientes con hepatitis B tienen una mayor predisposición al Carcinoma hepatocelular al consumir hierbas que contienen el ácido aristolóquico; esto se ha evidenciado en la secuenciación completa del exoma de carcinomas hepatocelulares, los cuales manifiestan una firma mutacional peculiar del AA, sugiriendo una conexión entre los derivados del AA y el desencadenamiento del Cáncer de hígado [11]. Estudios en animales han sugerido otros tipos de Cáncer relacionados al consumo del AA como son: tumores en el estómago anterior, el conducto auditivo, el riñón, el tracto urotelial, el intestino delgado y de la vejiga [11].

Métodos diagnósticos para identificar AA

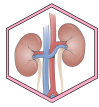
Secuenciación del genoma completo

La secuenciación es un método que ofrece múltiples ventajas entre ellas permite analizar simultáneamente una gran cantidad de tramos de ADN de una vasta base de datos, obteniendo una numerosa información acerca de enfermedades relacionadas con mutaciones; otra ventaja es su capacidad para detectar todos los tipos de variaciones genéticas en un único experimento e incluso puede detectar daños en el ADN ofreciendo facilidad de obtención de datos e interpretación de los mismos; por tales razones, se le considera como un método rápido, económico y con una alta tasa de sensibilidad y especificidad para el diagnóstico de enfermedades genómicas [19-21].

La secuenciación es utilizada para identificar la firma mutacional inducida por el ácido aristolóquico (AA) de todo el genoma, denominada firma 22 en el Catálogo de Mutaciones Somáticas en Cáncer (COSMIC). Esta firma mutacional se caracteriza por altas proporciones de mutaciones transversionales A:T>T:A [22, 23]. Las muestras pueden ser obtenidas a través de la orina o por medio de biopsias tumorales almacenadas en nitrógeno líquido inmediatamente después de la cirugía. El diagnóstico se realiza mediante la comparación de variantes caso/control. Las mutaciones asociadas al ácido aristolóquico (AA) afectan principalmente al gen TP53, el cual ha sido identificado como el gen mutado con mayor frecuencia por AA [15, 19, 24]. Además, se han identificado otros genes afectados por mutaciones recurrentes como KMT2A, KMT2C, KMT2D, ARID1A, TERT, FGFR3, ATRX, CREBBP, CHD2, CHD5, CHD8, LRRK2, AHNK, SMCHD1 y XIRP2 [15, 17]. Mediante la secuenciación se ha demostrado que la multifocalidad es más frecuente en pacientes con la firma mutacional asociada al AA. Sin embargo, los pacientes con esta firma mutacional definen un subtipo de bajo riesgo, debido a que se ha identificado un comportamiento menos agresivo en comparación con otros subtipos de UTUC y, por lo tanto, resultados clínicos más favorables [15, 25].

Espectroscopía dual

Esta técnica conocida específicamente como espectroscopía Raman de superficie mejorada SERS con enriquecimiento de grafeno y espectroscopía de fluorescencia. Los métodos para la detección de ácido aristolóquico I (AAI) a partir de remedios herbales se basan en la transformación de AAI en moléculas activas de fluorescencia, como la aristolactama (AAT) aplicando derivatización [26] o se usa la espectrometría de masas (MS) después de la separación cromatográfica [27]. El enfoque espectroscópico dual es usado para la detección de ácido aristolóquico (AA) a partir de muestras de sangre y tejido sin la necesidad de aplicar derivatización o separación cromatográfica. El ácido aristolóquico I (AAI) se detecta mediante espectroscopía Raman de superficie mejorada (SERS) con enriquecimiento de grafeno, y la detección de AAT, como bioproducto formado por la



metabolización de AAI en el cuerpo, se realiza mediante espectroscopia de fluorescencia.

Debido a la matriz biológica compleja de las muestras se realiza un pretratamiento para la extracción. Las muestras de tejido se homogenizan con solución salina, mientras que la sangre se usa directamente. Las muestras se mezclan primero con etanol y luego se agrega sulfato de amonio $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, se agitan y se dejan reposar durante 3 minutos para la separación de fases. Se realizan proporciones de etanol (19-25%) y sulfato de amonio (16-24%) en la solución para maximizar la eficiencia de extracción del compuesto objetivo localizado en la fase superior.

Después de la extracción, la solución se centrifuga y parte de la fase superior se destina al análisis por fluorescencia debido a que se detecta AAT directamente después de la extracción y otra parte se trata con nanopartículas magnéticas (Fe_3O_4 -Ag) previamente sintetizadas y grafeno para el análisis por SERS y HPLC (cromatografía líquida de alto rendimiento). Al llevar un monitoreo continuo, mediante un análisis metabólico se demuestra que la transformación de AAI a AAT se da en el riñón. Además, la vida útil de AAT se prolonga más en el riñón y en el hígado. La estrategia espectroscópica dual es aplicable a la investigación toxicológica a largo plazo y al diagnóstico directo de lesiones en órganos inducidas por AAI [28].

Cromatografía líquida en células uroteliales

También denominada Cromatografía líquida de ultra rendimiento-espectrometría de masas de triple cuadrupolo en células uroteliales exfoliadas El análisis de aductos AA-ADN en niveles bajos en una matriz biológica compleja ha sido el mayor desafío analítico. Se han desarrollado varios métodos para la detección de aductos AA-ADN, incluido el análisis de posmarcaje con 32 P [29], cromatografía líquida de alto rendimiento acoplada a espectrometría de masas (HPLC-MS) (26,27) y cromatografía líquida de alto rendimiento con detección de fluorescencia (HPLC-FLD) [32]. Sin embargo, se han presentado ciertas limitaciones relacionadas con la radioactividad en cuanto al análisis de posmarcaje con 32 P y resultados con una baja especificidad en cuanto a HPLC-FLD.

En cambio, este nuevo método se basa en cromatografía líquida de ultra rendimiento acoplada a espectrometría de masas en tándem (UPLC-MS/MS). A comparación del análisis HPLC convencional, la cromatografía líquida de ultra rendimiento (UPLC) ofrece una resolución cromatográfica mejorada y una mayor capacidad de pico a través de una elución rápida en una columna llena de partículas de 1.7 μm . La mayor eficiencia de las partículas pequeñas permite utilizar columnas más cortas, lo que reduce el tiempo de análisis y el consumo de disolvente. En el análisis de espectrometría de masas, el uso del modo de monitoreo de reacción múltiple (MRM) selecciona y monitorea tanto el progenitor como uno o más iones de producto simultáneamente y, por lo tanto, proporciona una mejor especificidad y sensibilidad.

Schmeiser et al. sugirieron que dA-AAI, aducto de ADN específico formado entre el ácido aristolóquico I y la adenina, podría ser la mutación crítica en el proceso carcinogénico en roedores. Por lo

tanto, este es un método para identificar dA-AAI como biomarcador y monitorear la exposición a AA [14, 33].

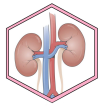
Primero, se sintetiza el aducto dA-AAI con el fin de proporcionar un estándar de referencia. El dA-AAI purificado se caracteriza mediante espectrometría de masas de alta resolución y espectroscopia de fluorescencia. Por otro lado, se aíslan las células uroteliales exfoliadas y se realiza la digestión de ADN. Debido al bajo nivel de aducto AA-ADN en la muestra de ADN digerida compleja, es necesaria la limpieza de la muestra y el enriquecimiento del aducto de ADN antes del análisis UPLC-MS/MS. Después de reservar 10 μl de la solución digerida para la determinación de nucleósidos normales, el extracto restante (aproximadamente 1.5 ml) se somete a extracción en fase sólida (SPE). La solución de ADN digerido se aplica luego a la columna y se lava la solución con agua y metanol. La fracción de metanol que contiene aductos AA-ADN se recolecta y se evapora hasta sequedad bajo una corriente de nitrógeno a 37 °C. El residuo obtenido se reconstituye en 100 μl de metanol para el análisis UPLC-MS/MS. Posteriormente, se realiza el análisis UPLC. La separación cromatográfica se logra en una columna híbrida de etilo con puente (BEH) C18 de Waters Acquity UPLC. La fase móvil consiste en agua (A) y acetonitrilo (B). El caudal de la fase móvil se mantiene a 400 $\mu\text{l}/\text{min}$ y la temperatura de la columna a 25 °C. El volumen de inyección es de 10 μl .

El análisis de espectrometría de masas se lleva a cabo en un espectrómetro de masas de triple cuadrupolo de Waters equipado con una fuente de ionización por electropulverización en modo de ionización positiva. El análisis y la cuantificación de los datos se realiza mediante el software MassLync de Waters.

Para el análisis cuantitativo, el dA-AAI pesado con precisión y el estándar interno se disuelven en metanol y metanol/ácido fórmico para preparar las soluciones madre. Las muestras de orina recolectadas se procesan como se describió anteriormente y se usan como matriz de muestra en blanco. Cada solución se enriquece con 10 ng/ml de reserpina como estándar interno. Se realizan tres inyecciones replicadas para cada nivel de calibración. La curva de calibración se establece trazando las proporciones de área de pico de dA-AAI con respecto al estándar interno frente a las concentraciones conocidas de dA-AAI. Los datos de regresión lineal derivados del promedio de los tres gráficos permiten la cuantificación de dA-AAI en células uroteliales exfoliadas. Generalmente, la concentración del aducto dA-AAI se expresa como aductos por 109 nucleótidos normales, por lo tanto, la concentración de nucleósidos no modificados se determina diluyendo 10 μl de las muestras de ADN digerido con 90 μl de metanol/agua para el análisis UPLC-MS/MS. Este método es específico y rápido para la detección de aductos AA-ADN de bajo nivel en células uroteliales, puesto que proporciona una buena exactitud y precisión con un límite de detección de 1 ng/ml [14].

PCR del gen P53

También denominada reacción en cadena de la polimerasa dependiente de transferasa terminal en el gen P53. Los carcinomas producidos por AA están asociados a la sobreexpresión de p53, lo que



sugiere que el gen p53 está mutado en la neoplasia urotelial asociada a la nefropatía por hierbas chinas (NCH) (30). El gen p53 es uno de los genes mutados más comúnmente observados en tumores humanos y está mutado en el 50 % de todos los cánceres humanos por tanto esta expresión se registra en los carcinomas uroteliales, así como las túbias renales y ureterales [34].

El análisis de los aductos AA-ADN implica cuatro pasos esenciales: digestión enzimática de la muestra de ADN; enriquecimiento de los aductos; radiomarcaje de los aductos mediante transferencia catalizada por la quinasa T4 de 32P-ortofosfato; separación e identificación de los aductos marcados; y detección y cuantificación por medio de su desintegración radiactiva [24].

Las muestras se obtienen mediante biopsias de carcinoma mamario. La detección secuencial específica empieza con un trazo en el mapa de la distribución de los aductos AA-ADN, con una resolución de un solo nucleótido en los exones 5-8 del gen p53 humano en el ADN genómico, utilizando un ensayo de detención de aducto-específico polimerasa, combinado con una PCR dependiente de transferasa terminal (TD-PCR) para amplificar fragmentos de ADN. Los aductos AA-ADN reaccionaron con ADN de carcinoma mamario humano (MCF-7) *in vitro* y los principales aductos de ADN formados se identificaron mediante el método de post-etiquetado con 32P. Estos aductos AA-ADN se utilizaron como plantillas para la TD-PCR [35, 36].

Como resultado el patrón de aducto es cualitativamente similar al encontrado en pacientes con NCH, que consiste en dos manchas principales (manchas 1 y 2) y una menor (mancha 3). Los dos aductos principales que se identificaron son dA-AAI (mancha 1) y dG-AAI (mancha 2) y el aducto menor dA-AAII (mancha 3). Además, el análisis cuantitativo obtenido por 32P-postetiquetado, reveló una formación dosis-dependiente de aductos de ADN de ácido aristolóquico I (AAI-ADN).

La activación química en los exones 5-8 del gen p53 revela que ciertos sitios de la secuencia son más propensos a la formación de aductos de ADN con ácido aristolóquico I (AAI) y ácido aristolóquico II (AAII), pero también se observan diferencias claras entre los dos ácidos carboxílicos nitrofenantrénicos, el espectro de detención revela que la mayoría de las detenciones están asociadas con residuos de purina en la secuencia. Esta preferencia por la reacción con bases de purina concuerda con los resultados del marcaje con 32P, por lo tanto, los aductos de purina son los principales productos de reacción de AAI y AAII con el ADN. Además, el punto caliente mutacional para los carcinomas uroteliales en el codón 248 del exón 7 muestra un fuerte sitio de unión de aductos AA-ADN dentro de una secuencia rica en citosina y guanina (CpG); especialmente con AAII. El otro punto caliente mutacional dentro de una secuencia CpG en el codón 282 del exón 8 se ha evidenciado como un sitio marginal de unión de aductos AA-ADN. En general, las guaninas en los sitios CpG en el gen p53 que corresponden a los puntos calientes mutacionales observados en muchos cánceres humanos no parecen ser objetivos preferenciales para AAI o AAII. Con este método no es posible predecir puntos críticos de mutación específicos de AA en tumores uroteliales relacionados con el gen p53 [36].

Resonancia magnética paramétrica

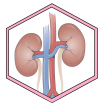
La resonancia magnética (RM) desempeña un papel importante en la investigación de la enfermedad renal. Por consiguiente, es útil para sondear la fisiopatología renal mediante técnicas de resonancia magnética renal funcional, como el contraste de imágenes dependiente del nivel de oxigenación de la sangre (BOLD), la imagen ponderada por difusión de agua (DWI) y la relaxometría por resonancia magnética. Por otro lado, el mapeo cuantitativo del tiempo de relajación T2 es una técnica bien establecida para la investigación (pre)clínica. (34,35). Se ha demostrado que el DWI sondea la microestructura del tejido a través del desplazamiento de moléculas de agua. Además, la difusión restringida del agua se manifiesta en una reducción del coeficiente de difusión aparente (CDA) [39].

Al realizar un estudio experimental en ratas, se consideran dos grupos: El grupo AAN, es el que recibe inyecciones intraperitoneales diarias de 40 mg/kg de AAI disuelto en polietilenglicol (PEG) durante seis días y el grupo control recibe inyecciones intraperitoneales diarias de PEG con la misma dosis y horario que el grupo AAN. Se observan imágenes 3D T2 en orientación coronal colocadas paralelas a ambos riñones y se definen regiones de interés (ROI) para la corteza renal (CO), la franja externa de la médula externa (OSOM), la franja interna de la médula externa (ISOM) y la médula interna (IM). Las ROI se extraen manualmente en el riñón derecho y se estiman los valores medios de T2 y ADC para cada capa renal [40].

Mediante un análisis estadístico con SPSS 22.0 se observan las diferencias en T2 y CDA entre el grupo AAN y el grupo control. Las correlaciones entre los parámetros TIS (score de lesión de tejido) y MRS (espectroscopia por resonancia magnética) debe presentar un valor de p inferior a 0,05 para considerarse significativo. Asimismo, se examina la viabilidad de la resonancia magnética paramétrica para la evaluación de la lesión renal en un modelo de rata tratado con AAI utilizando las métricas cuantitativas de resonancia magnética T2 y CDA. La resonancia magnética ponderada en T2 separa cuatro capas renales entre sí con un adecuado contraste tisular y muestra cambios microestructurales de diferentes capas renales en cada punto temporal. La lesión renal grave se detecta con el mapeo CDA. De igual manera, T2 muestra una correlación positiva significativa con el TIS; siendo el T2 de OSOM capaz de revelar el mayor coeficiente de correlación con daño a nivel de los túbulos renales. Este hallazgo considera que T2 es un candidato a marcador de imagen adecuado para la evaluación de la lesión tubular durante la fase aguda de la AAN [40].

Desafíos

El principal desafío analítico para la identificación de AA, ha sido el análisis de aductos AA-ADN en niveles bajos en una matriz biológica compleja. En UPLC-MS/MS y PCR dependiente de transferasa terminal es esencial identificar aductos AA-ADN. Sin embargo, UPLC-MS/MS detecta un solo aducto, dA-AAI [14]; mientras que PCR detecta dos, dA-AAI y dG-AAI (34). En cambio, al emplear la estrategia espectroscópica dual es necesaria la detección de AAT [27]. Por otra parte, en la secuenciación no es necesario analizar los aductos de



ADN, puesto que se toma en consideración el patrón de mutaciones catalogadas como firma mutacional, por lo que se obtiene información relevante sobre los genes implicados, el tipo de mutación y la multifocalidad [15, 22, 23].

Con relación al método PCR dependiente de transferasa terminal en el gen P53, existen ciertas limitaciones en cuanto al post-etiquetado con 32P a causa de la naturaleza radiactiva del isótopo [24]. Además, con PCR no es posible predecir puntos críticos de mutación específicos de AA en tumores uroteliales relacionados con el gen p53 [37].

Las muestras requeridas varían según el método utilizado. Para la identificación con UPLC-MS/MS se necesitan muestras de orina, en la PCR se utilizan muestras de tejido, en cuanto a la estrategia espectroscópica dual se usan muestras de sangre o de tejido. Mientras que, para la secuenciación se emplean muestras de sangre, tejido u orina [15, 28, 36]. Siendo este último el método más cercano a un patrón referencial debido a la variedad de tipos de muestras biológicas empleadas para el análisis.

La resonancia magnética detecta indicios de daño a nivel tubular en la fase aguda de la nefropatía por AA utilizando T2 [40]. Sin embargo, con este método no es posible detectar la presencia de AA dentro del organismo en comparación con los métodos mencionados anteriormente.

Conclusiones

Los métodos presentados con distintos enfoques experimentales, han demostrado ser de gran relevancia para la comunidad científica para establecer un diagnóstico temprano de patologías inducidas por AA, como son las nefropatías y el carcinoma urotelial. Sin embargo, en la actualidad, se ha comenzado a priorizar el uso de la secuenciación de nueva generación debido a sus ventajas, como una mayor sensibilidad, especificidad y capacidad para analizar múltiples muestras de forma simultánea. A pesar de esto, la implementación de estudios más amplios sigue siendo un desafío debido a los recursos significativos que estos métodos requieren.

Referencias

1. Zhang HM, Zhao XH, Sun ZH, Li GC, Liu GC, Sun LR, Hou JQ, Zhou W. Recognition of the toxicity of aristolochic acid. *J Clin Pharm Ther.* 2019 Apr;44(2):157-162. doi: [10.1111/jcpt.12789](https://doi.org/10.1111/jcpt.12789). Epub 2018 Dec 11. PMID: 30548302.
2. Luciano RL, Perazella MA. Aristolochic acid nephropathy: epidemiology, clinical presentation, and treatment. *Drug Saf.* 2015 Jan;38(1):55-64. doi: [10.1007/s40264-014-0244-x](https://doi.org/10.1007/s40264-014-0244-x). PMID: 25446374.
3. Shi LS, Kuo PC, Tsai YL, Damu AG, Wu TS. The alkaloids and other constituents from the root and stem of *Aristolochia elegans*. *Bioorg Med Chem.* 2004 Jan 15;12(2):439-46. doi: [10.1016/j.bmc.2003.10.031](https://doi.org/10.1016/j.bmc.2003.10.031). PMID: 14723962.
4. Chan CK, Liu Y, Pavlović NM, Chan W. Etiology of Balkan Endemic Nephropathy: An Update on Aristolochic Acids Exposure Mechanisms. *Chem Res Toxicol.* 2018 Nov 19;31(11):1109-1110. doi: [10.1021/acs.chemrestox.8b00291](https://doi.org/10.1021/acs.chemrestox.8b00291). Epub 2018 Oct 22. PMID: 30346143.

Abreviaturas

AA: Ácido araquidónico.
ADN: Ácido desoxirribonucleico.

Información suplementaria

Materiales suplementarios no han sido declarados.

Agradecimientos

No aplica.

Contribuciones de los autores

Daniela Jhulissa Rivas-Saca: Conceptualización, metodología, investigación, Escritura – Borrador original.

Lorena Viviana Mora Bravo: Conceptualización, Administración del proyecto, Supervisión, validación, visualización, Escritura – revisión y edición.

Kerly Samantha Saquipay-Nieves: Conceptualización, Curación de datos, Análisis formal, Adquisición de fondos, Investigación y Metodología.

Todos los autores leyeron y aprobaron la versión final del manuscrito.

Financiamiento

El estudio fue autofinanciado por los autores.

Disponibilidad de datos o materiales

No aplica.

Declaraciones

Aprobación del comité de ética y consentimiento para participar

No requerido para revisiones narrativas.

Consentimiento para publicación

No aplica cuando no se publican imágenes, radiografías o fotografías específicas de pacientes.

Conflictos de interés

Los autores declaran no tener conflictos de interés.

Información de los autores

No declarada.



5. Stiborová M, Frei E, Sopko B, Sopková K, Marková V, Lanková M, Kumstýrová T, Wiessler M, Schmeiser HH. Human cytosolic enzymes involved in the metabolic activation of carcinogenic aristolochic acid: evidence for reductive activation by human NAD(P)H:quinone oxidoreductase. *Carcinogenesis*. 2003 Oct;24(10):1695-703. doi: [10.1093/carcin/bgg119](https://doi.org/10.1093/carcin/bgg119). Epub 2003 Jul 17. PMID: 12869422.
6. Grollman AP, Shibutani S, Moriya M, Miller F, Wu L, Moll U, Suzuki N, Fernandes A, Rosenquist T, Medverec Z, Jakovina K, Brdar B, Slade N, Turessky RJ, Goodenough AK, Rieger R, Vukelić M, Jelaković B. Aristolochic acid and the etiology of endemic (Balkan) nephropathy. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2007 Jul 17;104(29):12129-34. doi: [10.1073/pnas.0701248104](https://doi.org/10.1073/pnas.0701248104). Epub 2007 Jul 9. PMID: 17620607; PMCID: PMC1913550.
7. Kumar V, Poonam, Prasad AK, Parmar VS. Naturally occurring aristolactams, aristolochic acids and dioxaporphines and their biological activities. *Nat Prod Rep*. 2003 Dec;20(6):565-83. doi: [10.1039/b303648k](https://doi.org/10.1039/b303648k). PMID: 14700200.
8. Baudoux T, Jadot I, Declèves AE, Antoine MH, Colet JM, Botton O, De Prez E, Pozdzik A, Husson C, Caron N, Nortier JL. Experimental Aristolochic Acid Nephropathy: A Relevant Model to Study AKI-to-CKD Transition. *Front Med (Lausanne)*. 2022 May 4;9:822870. doi: [10.3389/fmed.2022.822870](https://doi.org/10.3389/fmed.2022.822870). PMID: 35602498; PMCID: PMC9115860.
9. Stiborová M, Frei E, Wiessler M, Schmeiser HH. Human enzymes involved in the metabolic activation of carcinogenic aristolochic acids: evidence for reductive activation by cytochromes P450 1A1 and 1A2. *Chem Res Toxicol*. 2001 Aug;14(8):1128-37. doi: [10.1021/tx010059z](https://doi.org/10.1021/tx010059z). PMID: 11511187.
10. Stiborová M, Frei E, Arlt VM, Schmeiser HH. Metabolic activation of carcinogenic aristolochic acid, a risk factor for Balkan endemic nephropathy. *Mutat Res*. 2008 Jan-Feb;658(1-2):55-67. doi: [10.1016/j.mrrev.2007.07.003](https://doi.org/10.1016/j.mrrev.2007.07.003). Epub 2007 Aug 6. PMID: 17851120.
11. Han J, Xian Z, Zhang Y, Liu J, Liang A. Systematic Overview of Aristolochic Acids: Nephrotoxicity, Carcinogenicity, and Underlying Mechanisms. *Front Pharmacol*. 2019 Jun 11;10:648. doi: [10.3389/fphar.2019.00648](https://doi.org/10.3389/fphar.2019.00648). PMID: 31244661; PMCID: PMC6580798.
12. Van Vleet TR, Schnellmann RG. Toxic nephropathy: environmental chemicals. *Semin Nephrol*. 2003 Sep;23(5):500-8. doi: [10.1016/s0270-9295\(03\)00094-9](https://doi.org/10.1016/s0270-9295(03)00094-9). PMID: 13680539.
13. Sidorenko VS, Attaluri S, Zaitseva I, Iden CR, Dickman KG, Johnson F, Grollman AP. Bioactivation of the human carcinogen aristolochic acid. *Carcinogenesis*. 2014 Aug;35(8):1814-22. doi: [10.1093/carcin/bgu095](https://doi.org/10.1093/carcin/bgu095). Epub 2014 Apr 17. PMID: 24743514; PMCID: PMC4123648.
14. Guo L, Wu H, Yue H, Lin S, Lai Y, Cai Z. A novel and specific method for the determination of aristolochic acid-derived DNA adducts in exfoliated urothelial cells by using ultra performance liquid chromatography-triple quadrupole mass spectrometry. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci*. 2011 Jan 15;879(2):153-8. doi: [10.1016/j.jchromb.2010.11.035](https://doi.org/10.1016/j.jchromb.2010.11.035). Epub 2010 Dec 4. PMID: 21177145.
15. Lu H, Liang Y, Guan B, Shi Y, Gong Y, Li J, Kong W, Liu J, Fang D, Liu L, He Q, Shakeel M, Li X, Zhou L, Ci W. Aristolochic acid mutational signature defines the low-risk subtype in upper tract urothelial carcinoma. *Theranostics*. 2020 Mar 4;10(10):4323-4333. doi: [10.7150/thno.43251](https://doi.org/10.7150/thno.43251). PMID: 32292497; PMCID: PMC7150494.
16. National Toxicology Program. Aristolochic Acids, Report on Carcinogens, Thirteenth Edition. Triangle Park, NC: National Institute of Environmental Health and Safety, 2014. ntp.niehs.nih.gov
17. Tomlinson T, Fernandes A, Grollman AP. Aristolochia Herbs and Iatrogenic Disease: The Case of Portland's Powders. *Yale J Biol Med*. 2020 Jun 29;93(2):355-363. PMID: [32607094](https://doi.org/32607094); PMCID: PMC7309663.
18. Molina Miguel A, Ruiz Erro MC. Un caso de probable nefropatía endémica de los Balcanes [A probable case of Balkan endemic nephropathy]. *Nefrología*. 2009;29(1):87-8. Spanish. doi: [10.3265/Nefrologia.2009.29.1.87.2.en.full.pdf](https://doi.org/10.3265/Nefrologia.2009.29.1.87.2.en.full.pdf). PMID: 19240783.
19. Pose P, Camarasa N, Maestu I. Caracterización molecular y genómica de cánceres con mala evolución mediante secuenciación masiva NGS. [Tesis doctoral]. Universitat de Valencia. Octubre 2022.
20. McCombie WR, McPherson JD, Mardis ER. Next-Generation Sequencing Technologies. *Cold Spring Harb Perspect Med*. 2019 Nov 1;9(11):a036798. doi:



- [10.1101/cshperspect.a036798](https://doi.org/10.1101/cshperspect.a036798). PMID: 30478097; PMCID: PMC6824406.
21. Shendure J, Balasubramanian S, Church GM, Gilbert W, Rogers J, Schloss JA, Waterston RH. DNA sequencing at 40: past, present and future. *Nature*. 2017 Oct 19;550(7676):345-353. doi: [10.1038/nature24286](https://doi.org/10.1038/nature24286). Epub 2017 Oct 11. Erratum in: *Nature*. 2019 Apr;568(7752):E11. doi: [10.1038/s41586-019-1120-8](https://doi.org/10.1038/s41586-019-1120-8). PMID: 29019985.
 22. Shi LS, Kuo PC, Tsai YL, Damu AG, Wu TS. The alkaloids and other constituents from the root and stem of *Aristolochia elegans*. *Bioorg Med Chem*. 2004 Jan 15;12(2):439-46. doi: [10.1016/j.bmc.2003.10.031](https://doi.org/10.1016/j.bmc.2003.10.031). PMID: 14723962.
 23. Hoang ML, Chen CH, Sidorenko VS, He J, Dickman KG, Yun BH, Moriya M, Niknafs N, Douville C, Karchin R, Turesky RJ, Pu YS, Vogelstein B, Papadopoulos N, Grollman AP, Kinzler KW, Rosenquist TA. Mutational signature of aristolochic acid exposure as revealed by whole-exome sequencing. *Sci Transl Med*. 2013 Aug 7;5(197):197ra102. doi: [10.1126/scitranslmed.3006200](https://doi.org/10.1126/scitranslmed.3006200). PMID: 23926200; PMCID: PMC3973132.
 24. Phillips DH, Arlt VM. ³²P-postlabeling analysis of DNA adducts. *Methods Mol Biol*. 2014;1105:127-38. doi: [10.1007/978-1-62703-739-6_10](https://doi.org/10.1007/978-1-62703-739-6_10). PMID: 24623224.
 25. Blokzijl F, Janssen R, van Bostel R, Cuppen E. MutationalPatterns: comprehensive genome-wide analysis of mutational processes. *Genome Med*. 2018 Apr 25;10(1):33. doi: [10.1186/s13073-018-0539-0](https://doi.org/10.1186/s13073-018-0539-0). PMID: 29695279; PMCID: PMC5922316.
 26. Wang Y, Chan W. Determination of aristolochic acids by high-performance liquid chromatography with fluorescence detection. *J Agric Food Chem*. 2014 Jun 25;62(25):5859-64. doi: [10.1021/jf501609j](https://doi.org/10.1021/jf501609j). Epub 2014 Jun 17. PMID: 24920127.
 27. Kuo CH, Lee CW, Lin SC, Tsai IL, Lee SS, Tseng YJ, Kang JJ, Peng FC, Wei-Chu L. Rapid determination of aristolochic acids I and II in herbal products and biological samples by ultra-high-pressure liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *Talanta*. 2010 Mar 15;80(5):1672-80. doi: [10.1016/j.talanta.2009.10.003](https://doi.org/10.1016/j.talanta.2009.10.003). Epub 2009 Oct 12. PMID: 20152395.
 28. Ouyang L, Zhang Q, Ma G, Zhu L, Wang Y, Chen Z, Wang Y, Zhao L. New Dual-Spectroscopic Strategy for the Direct Detection of Aristolochic Acids in Blood and Tissue. *Anal Chem*. 2019 Jul 2;91(13):8154-8161. doi: [10.1021/acs.analchem.9b00442](https://doi.org/10.1021/acs.analchem.9b00442). Epub 2019 Jun 10. PMID: 31140784.
 29. Dong H, Suzuki N, Torres MC, Bonala RR, Johnson F, Grollman AP, Shibutani S. Quantitative determination of aristolochic acid-derived DNA adducts in rats using ³²P-postlabeling/polyacrylamide gel electrophoresis analysis. *Drug Metab Dispos*. 2006 Jul;34(7):1122-7. doi: [10.1124/dmd.105.008706](https://doi.org/10.1124/dmd.105.008706). Epub 2006 Apr 12. PMID: 16611860.
 30. Chan W, Yue H, Poon WT, Chan YW, Schmitz OJ, Kwong DW, Wong RN, Cai Z. Quantification of aristolochic acid-derived DNA adducts in rat kidney and liver by using liquid chromatography-electrospray ionization mass spectrometry. *Mutat Res*. 2008 Nov 10;646(1-2):17-24. doi: [10.1016/j.mrfmmm.2008.08.012](https://doi.org/10.1016/j.mrfmmm.2008.08.012). Epub 2008 Sep 4. PMID: 18812181.
 31. Chan W, Zheng Y, Cai Z. Liquid chromatography-tandem mass spectrometry analysis of the DNA adducts of aristolochic acids. *J Am Soc Mass Spectrom*. 2007 Apr;18(4):642-50. doi: [10.1016/j.jasms.2006.11.010](https://doi.org/10.1016/j.jasms.2006.11.010). Epub 2007 Jan 5. PMID: 17208007.
 32. Chan W, Poon WT, Chan YW, Wan KY, Cai Z. A new approach for the sensitive determination of DNA adduct of aristolochic acid II by using high-performance liquid chromatography with fluorescence detection. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci*. 2009 Apr 1;877(10):848-52. doi: [10.1016/j.jchromb.2009.02.007](https://doi.org/10.1016/j.jchromb.2009.02.007). Epub 2009 Feb 11. PMID: 19249256.
 33. Schmeiser HH, Janssen JW, Lyons J, Scherf HR, Pfau W, Buchmann A, Bartram CR, Wiessler M. Aristolochic acid activates ras genes in rat tumors at deoxyadenosine residues. *Cancer Res*. 1990 Sep 1;50(17):5464-9. PMID: [2201437](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/2201437/).
 34. Cosyns JP, Jadoul M, Squifflet JP, Wese FX, van Ypersele de Strihou C. Urothelial lesions in Chinese-herb nephropathy. *Am J Kidney Dis*. 1999 Jun;33(6):1011-7. doi: [10.1016/S0272-6386\(99\)70136-8](https://doi.org/10.1016/S0272-6386(99)70136-8). PMID: 10352187.
 35. Lord GM, Hollstein M, Arlt VM, Roufosse C, Pusey CD, Cook T, Schmeiser HH. DNA adducts and p53 mutations in a patient with aristolochic acid-associated nephropathy. *Am J Kidney Dis*. 2004 Apr;43(4):e11-7. doi: [10.1053/j.ajkd.2003.11.024](https://doi.org/10.1053/j.ajkd.2003.11.024). PMID: 15042566.
 36. Arlt VM, Schmeiser HH, Pfeifer GP. Sequence-specific detection of aristolochic acid-DNA adducts in the human p53 gene by terminal transferase-dependent PCR. *Carcinogenesis*. 2001 Jan;22(1):133-40. doi: [10.1093/carcin/22.1.133](https://doi.org/10.1093/carcin/22.1.133). PMID: 11159751.
 37. Caroli A, Pruijm M, Burnier M, Selby NM. Functional magnetic resonance imaging of the kidneys: where do we stand? The perspective of the European COST Action PARENCHIMA. *Nephrol Dial Transplant*. 2018 Sep 1;33(suppl_2):ii1-ii3. doi: [10.1093/ndt/gfy181](https://doi.org/10.1093/ndt/gfy181). PMID: 30137582; PMCID: PMC6106640.
 38. Zhang JL, Morrell G, Rusinek H, Sigmund EE, Chandarana H, Lerman LO, Prasad PV, Niles D, Artz N, Fain S, Vivier PH, Cheung AK, Lee VS. New magnetic resonance imaging



methods in nephrology. *Kidney Int.* 2014 Apr;85(4):768-78. doi: [10.1038/ki.2013.361](https://doi.org/10.1038/ki.2013.361). Epub 2013 Sep 25. PMID: 24067433; PMCID: PMC3965662.

39. Ko SF, Yip HK, Zhen YY, Lee CC, Lee CC, Huang SJ, Huang CC, Ng SH, Lin JW. Severe bilateral ischemic-reperfusion renal injury: hyperacute and acute changes in apparent diffusion coefficient, T1, and T2 mapping with immunohistochemical correlations. *Sci Rep.* 2017 May 11;7(1):1725. doi: [10.1038/s41598-017-01895-x](https://doi.org/10.1038/s41598-017-01895-x). PMID: 28496138; PMCID: PMC5431885.

40. Mei Y, Yang G, Guo Y, Zhao K, Wu S, Xu Z, Zhou S, Yan C, Seeliger E, Niendorf T, Xu Y, Feng Y. Parametric MRI Detects Aristolochic Acid Induced Acute Kidney Injury. *Tomography.* 2022 Dec 10;8(6):2902-2914. doi: [10.3390/tomography8060243](https://doi.org/10.3390/tomography8060243). PMID: 36548535; PMCID: PMC9786286.

DOI: Digital Object Identifier. **PMID:** PubMed Identifier.

Nota del Editor

REV SEN se mantiene neutral con respecto a los reclamos jurisdiccionales sobre mapas publicados y afiliaciones institucionales.
