

Universidad de Ciencias Médicas de La Habana. Instituto de Ciencias Básicas y Preclínicas "Victoria de Girón"

Biomodelo de insuficiencia renal crónica con el uso del tisuacryl en ratas

Chronic renal failure model with the use of tisuacryl in rats

Carlos Rafael Núñez Cairo

Especialista Primer Grado en Fisiología Normal y Patológica. Instructor.
crncairo@giron.sld.cu

RESUMEN

Introducción: Con el propósito de mejorar la atención a la Insuficiencia Renal Crónica (IRC) como problema de salud, se han desarrollado numerosas investigaciones experimentales en biomodelos. Perfeccionar los biomodelos de IRC, es uno de los retos actuales. Los biomodelos de IRC quirúrgicos son los más utilizados y entre sus variantes se deben favorecer la precisión en la instauración y evolución con respecto al tiempo de la insuficiencia.

Objetivo: Evaluar un modelo experimental de Insuficiencia Renal Crónica en ratas con el uso del Tisuacryl.

Método: Para ello se utilizaron 90 ratas Wistar distribuidas en series (de 7, 28, 42, y 60 días) y grupos de trabajo (controles y experimentales) para cada serie. Se diseñó un modelo de IRC por ablación de 5/6 de la masa renal y se utilizó el adhesivo tisular Tisuacryl de producción nacional como sellante de las superficies de corte. Se evaluaron la proteinuria de 24 horas, creatinina plasmática, flujo plasmático renal efectivo (FPRE), intensidad de filtración glomerular (IFG) y la fracción de filtración.

Resultados: Se apreció un aumento de la Proteinuria y la Creatinina y una caída del flujo plasmático renal efectivo y la intensidad de filtración glomerular. Todas las variables caracterizaron la instauración de una insuficiencia renal crónica en el modelo con un grado de moderado a ligero con estabilidad.

Conclusiones: Se evaluó un modelo de Insuficiencia Renal Crónica en ratas con el uso del Tisuacryl, lo que ha permitido comprobar cómo este modelo ha llegado a replicar las condiciones en humanos. Se determinan como variables fundamentales

para indicar la evaluación del grado de Insuficiencia la proteinuria, la creatinina plasmática, el FPRE y IFG, justificando el grado de insuficiencia, los cuales transitan para este modelo por moderado y ligero.

Palabras clave: enfermedad renal crónica, insuficiencia renal crónica, modelos, biomodelos, adhesivo tisular, cianocrilatos, tisuacryl, rata.

ABSTRACT

Introduction: To provide better health care to renal failure patients is a national health goal in our country; thus, different studies have been carried out using biomodels for renal failure. To improve the reliability of these biomodels still remains as a major challenge. Particularly, models for chronic renal failure (CRF) have been widely used, pursuing a better accuracy in instauration and evolution time, especially in defining the failure's duration.

Objective: To validate an experimental model for CRF in rats using Tisuacryl developed in our laboratory.

Methods: Ninety Wistar rats were distributed into series (of 7, 28, 42, and 60 days) and working groups (controls and experimental) for each series. CRF model for ablation of 5/6 of the renal mass was designed, using the tissue adhesive Tisuacryl (of national production) as sealant of the cut surfaces. The following parameters were evaluated: protein excretion during 24 hours, plasmatic creatinine, renal effective plasmatic flow (REPF), glomerular filtration rate (GFR), and filtration fraction.

Results: An increase in protein excretion and creatinine was observed, as well as a drop in, REPF, and GFR. All variables changed to levels compatible with a scenario of CRF of moderate to slight stability level.

Conclusions: The Tisuacryl rat model for CRF was evaluated. As result, this model reproduces the conditions of the disease in humans. The best variables for describing the CRF were: protein excretion, plasma creatinine, REPF and GFR, since these allow assessing the failure's degree. In this model the failure degree transits from slight to moderate.

Key words: renal chronic disease, renal chronic failure, model, tissue adhesives, cyanocrylates, tisuacryl, rat.

INTRODUCCIÓN

La Insuficiencia Renal Crónica Terminal se ha convertido en un problema de salud emergente, complejo y creciente. En este siglo XXI, más de 1 000 000 de pacientes se mantienen con tratamiento sustitutivo de la función renal a través de diálisis o trasplantes y más de 220 000 nuevos pacientes inician estos tratamientos anualmente en el mundo.^{1, 2, 3}

Las enfermedades renales crónicas (ERC), con su expresión más grave, la insuficiencia renal crónica (IRC), se presentan en cualquier latitud, raza, sexo y edad. Sus alteraciones no respetan ninguna célula del organismo. Este problema de salud impacta a la persona, la familia y la comunidad.^{4,5}

Al conocer que la hipertensión arterial, la *Diabetes mellitus* y las glomerulopatías son las principales causas de IRC en el mundo queda demostrada la influencia social y económica en su frecuencia, forma de presentación, gravedad y pronóstico.^{1,2,3,4}

La investigación científica desde la clínica y el desarrollo de la enfermedad en cualquiera de las acciones atencionales, pudiera parecer la primera solución para esta problemática. No obstante, existen otras investigaciones relevantes que pueden desarrollarse mediante el uso de biomodelos. El campo de la investigación experimental no es rechazada, cada día contribuye con nuevas soluciones a difíciles problemas clínicos, al poder replicar situaciones de enfermedades en humanos y poderse manipular las condiciones en que estas se desarrollan, identificando causas o aislando condiciones que modifican el curso de la enfermedad. Esta posibilidad ha permitido incuestionables avances en las Ciencias Médicas. La Insuficiencia Renal Crónica ha sido muy favorecida con los estudios que se han realizado en las últimas décadas con la utilización de biomodelos en las investigaciones referentes a las enfermedades renales.^{6,7,8,9,10,11,12,13,14}

En nuestro laboratorio, se ha trabajado por más de 6 años dando respuesta a la necesidad creciente de estudios experimentales y nos hemos dado a la tarea de perfeccionar los modelos existentes. Por eso, con este trabajo se desea evaluar un modelo contextualizado de insuficiencia renal crónica por ablación de 5/6 de la masa renal usando como sellante de las superficies de corte el cianocrilato de producción nacional, Tisuacryl, a través del cual justificamos sus beneficios en la solución de la evaluación experimental de este importante problema de salud y comprobamos cómo este modelo es capaz de replicar las condiciones en humano.

MÉTODOS

Se realizó un estudio prospectivo experimental en el cual se estudiaron 90 ratas hembras de la línea Wistar adultas jóvenes, con un rango de peso entre 185 y 230 gramos, con una variación, dentro de cada grupo, no mayor de 15 gramos.

Estos animales fueron distribuidos en 4 series de trabajo (A, B, C y D), con diferentes tiempos de experimentación (7, 28, 42 y 60 días), cada una de ellas con 20 animales, de los cuales 10 se utilizaron como controles y 10 como experimentales, y se constituyó un grupo independiente (Control Cero) como control inicial para todas las series de trabajo. Todos los animales fueron evaluados en dos tiempos, un tiempo subcero (t_0) o tiempo inicial y un tiempo subuno (t_1) o tiempo final, al final del ensayo experimental.

Durante todo el trabajo experimental se cumplieron las normas éticas para el manejo de animales de laboratorio y establecidas por el preproyecto nacional de Ley Referente a la Protección de Animales.

Se consideraron como Grupos Controles a los grupos de animales normales que evolucionaron simultáneamente; a los animales experimentales de cada serie según protocolo de trabajo y como Grupos Experimentales (Tisuacryl) a los grupos de animales a los cuales se les realizó al final del tiempo subcero la técnica quirúrgica de ablación de 5/6 de masa renal, realizándose nefrectomía total derecha y nefrectomía subtotal izquierda, utilizándose Tisuacryl para el sellaje de superficies, y se dejó evolucionar según protocolo de trabajo. El Tisuacryl fue suministrado por el Centro de Biomateriales de la Universidad de La Habana, Se aplicó una sola gota del producto, presentado en ampolletas monodosis de 0.15 ml, la cual se extendió

sobre cada superficie con la punta amarilla para pipeta Esendoff, garantizando la formación de una capa fina del producto. (Figura 1).



Figura 1. Fotos del producto y su aplicación.
Superficie de corte con producto aplicado ampolletas de tisuacryl

En ambos tiempos, los animales fueron colocados en jaulas metabólicas para la recolección de muestras de orina de 24 horas, lo cual permitió la evaluación de la Proteinuria de 24 horas (mg/24h/100g de PC) que fue determinada por la técnica fotocolorimétrica de Biuret.¹⁵ En el tiempo subuno se les realizó técnica de punción cardíaca, y se obtuvo una muestra de sangre suficiente para la determinación de Creatinina Plasmática ($\mu\text{mol/L}$); fue medida en filtrados libres de proteínas por el método de Tungstato de Sodio, usando para esta evaluación el método de Ácido Pírico modificado por Brot.¹⁶ En este mismo tiempo se realizó técnica de aclaramiento compartimental de Inulina y Ácido Paraminohipúrico (PAH).¹⁷ para la determinación de la Intensidad de Filtración Glomerular (IFG) y el Flujo Plasmático Renal Efectivo (FPRE), (mL/min/100g de PC). Las concentraciones de Inulina y PAH fueron determinadas en filtrado libre de proteínas. La Inulina se determinó por el método directo de Resorcinol sin tratamiento alcalino y el Paraminohipurato por la técnica fotocolorimétrica de Bratton y Marshal, modificada por Hamel W. Smith.^{18, 19} Los aclaramientos de Inulina y PAH se calcularon mediante el análisis de descomposición multicompartimental de las curvas de desaparición respectivas de dichas sustancias en plasma, utilizando para ello un *software* matemático MATLAB, desarrollado por el Centro de Cibernética Aplicada a la Medicina CECAM. Por último, la Fracción de Filtración (FF) se calculó como la relación existente entre la IFG/FPRE.

Para realizar el análisis estadístico, todos los resultados se coleccionaron en una base de datos que se procesó en el Sistema SPSS. PC versión 11.0 para Windows xp. 2003.

A las variables se les realizó determinación de la media, y análisis de la varianza de clasificación doble, con un grupo control adicional (C0), comportándose las variables antes mencionadas como dependientes respecto a los factores de clasificación o variables independientes, las cuales son tratamiento y tiempo; tratamiento (modelo de IRC con Tisuacryl) con dos niveles (con o sin tratamiento (control)) y el tiempo con cuatro niveles (7,28,42 y 60 días).

Se usó además la transformación logarítmica para obtener una mejor aproximación a la distribución normal de los residuos del modelo, así como para lograr mayor homocedasticidad (igualdad de varianzas por "celdas").

Se planificó siempre comparar mediante un contraste el nivel promedio de los controles (tiempo 7, 28, 42 y 60 días) con el control adicional (tiempo 0).

En los casos en que el ANOVA fue significativo ($p < 0.05$), se realizó el Test de comparaciones de múltiples HSD de Tukey.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Se determinaron las variables más importantes para la evaluación del grado de Insuficiencia.

Proteinuria de 24 horas

Se demostró que las medias de la proteinuria de 24 horas (mg/24h/100g) en los diferentes grupos de trabajo presentaron un comportamiento similar en los grupos controles para cada serie y en el control cero. En todos los grupos experimentales, esta variable se elevó al compararla con sus controles. En el procesamiento estadístico, el ANOVA demostró efecto de tratamiento para una p de 0.00 y no existió efecto en cuanto al tiempo ni interacción tratamiento- tiempo para una p de 0.899 y 0.469 respectivamente. Además no existieron diferencias significativas entre los grupos controles para una p de 0.472 y sí existieron diferencias significativas al comparar las medias de los grupos controles con los tratados, con una p de 0.00. Al realizar el Test de comparaciones de múltiples de Tukey se resumió que existieron diferencias significativas entre controles y experimentales de la misma serie y de series diferentes. (Tabla).

Tabla. Medias de las variables del estudio

Serie	Grupos	Proteinuria 24h (mg/24h/100g de PC)	Creatinina Plasmática ($\mu\text{mol/L}$)	Flujo Plasmático Renal Efectivo (mL/min/100g de PC)	Intensidad de Filtración Glomerular (mL/min/100g de PC)	Fracción de Filtración
	C0	1,309	91,80	4,258	0,821	0,194
A	C7	1,290	94,00	4,517	0,892	0,200
	T7	9,709	197,00	1,210	0,258	0,214
B	C28	1,352	96,60	4,287	0,852	0,200
	T28	9,701	201,70	1,460	0,354	0,241
C	C42	1,373	97,40	3,990	0,804	0,202
	T42	9,629	203,60	1,509	0,411	0,272
D	C60	1,387	98,50	3,888	0,787	0,203
	T60	9,228	202,10	1,507	0,441	0,293

La Proteinuria aumentó significativamente en el grupo experimental T7 con una tendencia a mantenerse estable según el tiempo. Esta alteración tiene lugar en el modelo de ablación renal desarrollado por las consecuencias que produce la

reducción del número de nefronas funcionantes sobre la vasodilatación preglomerular, el aumento del flujo plasmático por nefrona y el aumento de la presión capilar glomerular. Esta explicación se argumenta en la literatura como teoría clásica de la hiperfiltración glomerular y por la presencia de proteínas en la luz tubular produciendo síntesis en las células epiteliales de sustancias y factores de crecimiento que justifican la valoración diagnóstica y pronóstica de la proteinuria.

20,21,22

Creatinina plasmática

Al analizar la media de la creatinina plasmática, expresada en $\mu\text{mol/L}$, se destacó un comportamiento similar en las medias de los grupos controles y un incremento proporcional en los grupos experimentales de cada serie. Al realizar el procesamiento estadístico del ANOVA se encontró que existió efecto en cuanto al tratamiento con una p de 0.00; no existió efecto en cuanto al tiempo ni interacción tratamiento tiempo para una p de 0.699 y 0.986 respectivamente. Además no existieron diferencias significativas entre los grupos controles para una p de 0.178 y sí fueron significativas al comparar los controles con los tratados, con una p de 0.00. Al realizar el Test de Tukey se comprobó que existieron diferencias significativas entre los grupos controles y experimentales de igual serie y de series diferentes. (Tabla).

Tabla. Medias de las variables del estudio

Series	Grupos	Proteinuria 24h (mg/24h/100g de PC)	Creatinina Plasmática ($\mu\text{mol/L}$)	Flujo Plasmático Renal Efectivo (mL/min/100g de PC)	Intensidad de Filtración Glomerular (mL/min/100g de PC)	Fracción de Filtración
	C0	1,309	91,80	4,258	0,821	0,194
A	C7	1,290	94,00	4,517	0,892	0,200
	T7	9,709	197,00	1,210	0,258	0,214
B	C28	1,352	96,60	4,287	0,852	0,200
	T28	9,701	201,70	1,460	0,354	0,241
C	C42	1,373	97,40	3,990	0,804	0,202
	T42	9,629	203,60	1,509	0,411	0,272
D	C60	1,387	98,50	3,888	0,787	0,203
	T60	9,228	202,10	1,507	0,441	0,293

La Creatinina Plasmática en los grupos experimentales aumentó significativamente en T7 y tendió a la estabilidad según tiempo en este modelo de ablación renal con Tisuacry, como expresión de la disminución integral de la función, que se produjo independientemente del proceso de hiperfiltración que tuvo lugar en las nefronas funcionantes, el proceso sinérgico de la reserva funcional renal y otros efectos relacionados con el compromiso de la filtración glomerular como proceso. Esta explicación se sustentó por los aportes metodológicos de la literatura al identificar la relación directa de la creatinina plasmática como indicador de la función renal.^{23,24,25}

Flujo plasmático renal efectivo

La media del flujo plasmático renal efectivo de los diferentes grupos expresada en mL/min/100g de PC, mostró un comportamiento similar en el grupo C0 y el resto de los grupos controles, pero en los grupos experimentales se produjo una caída significativa con respecto a los controles de su serie y al grupo C0. Al hacer el análisis del ANOVA se demostró la existencia de efecto en cuanto al tratamiento para una p de 0.00, de no efecto en cuanto al tiempo para una p de 0.179 y de interacción tratamiento- tiempo para una p= 2.8243E-07. No existieron además diferencias significativas al comparar la media de los controles con el grupo independiente C0, con una p de 0.656 y sí existieron diferencias significativas al comparar los tratados con los controles para una p de 0.00. Al realizar el Tukey, Test de comparaciones de múltiples, se resumió que existieron diferencias significativas entre controles y experimentales de la misma serie, así como de series diferentes. Además se destacaron diferencias significativas al comparar las medias de los grupos C7 y C60 con una p de 0.042, T7 y T28 con una p de 0.00217, T7 y T42 con una p de 0.00024 y el grupo T7 con T60 con una p de 0.00022. (Tabla).

Tabla. Medias de las variables del estudio

Serie	Grupos	Proteinuria 24h (mg/24h/100g de PC)	Creatinina Plasmática (μmol/L)	Flujo Plasmático Renal Efectivo (mL/min/100g de PC)	Intensidad de Filtración Glomerular (mL/min/100g de PC)	Fracción de Filtración
	C0	1,309	91,80	4,258	0,821	0,194
A	C7	1,290	94,00	4,517	0,892	0,200
	T7	9,709	197,00	1,210	0,258	0,214
B	C28	1,352	96,60	4,287	0,852	0,200
	T28	9,701	201,70	1,460	0,354	0,241
C	C42	1,373	97,40	3,990	0,804	0,202
	T42	9,629	203,60	1,509	0,411	0,272
D	C60	1,387	98,50	3,888	0,787	0,203
	T60	9,228	202,10	1,507	0,441	0,293

El Flujo Plasmático Renal Efectivo en este trabajo experimental se presentó como un indicador directo del volumen de plasma que pasa por los riñones, que disminuyó significativamente en todos los grupos experimentales por la reducción de la masa renal a pesar del proceso de hiperfiltración de las nefronas funcionantes y los procesos de hipertrofia que se desarrollan según efecto- tiempo y que explican una discreta tendencia a la recuperación. Este comportamiento se hizo objetivo al verificar las diferencias significativas que existen entre T7 y el resto de los grupos experimentales y la no diferencia significativa entre T28, T42 y T60. ^{26,27,28}

Intensidad de filtración glomerular

En la determinación de la Filtración Glomerular en los grupos de trabajo, expresada en mL/min/100g de PC, indicándose la media, se toma como referente el grupo C0

y se observa que en el resto de los grupos controles hay discreta variabilidad con tendencia no significativa a disminuir según tiempo. En los grupos experimentales, se produce una caída significativa de la intensidad de filtración al compararlos con los grupos controles de sus series. El comportamiento es variable y tiene una tendencia a aumentar. En el ANOVA realizado a esta variable mostró que existió efecto en cuanto al tratamiento, al tiempo e interacción tratamiento- tiempo, para unos valores de $p= 0.00$; $3.102E-11$ y $7.1645E-21$. No existieron diferencias significativas en la comparación de las medias de los grupos controles, incluyendo el grupo C0 para una p de 0.508, existieron diferencias significativas al comparar los grupos tratados (modelo de IRC con Tisuacryl) con los grupos controles para una p de 0.00. Al realizar el Test de Tukey mostró la existencia de diferencias significativas al comparar las medias de los grupos controles y experimentales de igual serie y de series distintas. Además existieron diferencias significativas al comparar el grupo C7 con C60 para una p de 0.02, T7 con T28, T7 con T42 y T7 con T60 con una p para los tres casos de 0.00012; T28 con T42 con una p de 0.0020 y T28 con T60 con una p de 0.0012. Debemos destacar que no existieron diferencias significativas al comparar T42 con T60 para una p de 0.516. (Tabla).

Tabla. Medias de las variables del estudio

Series	Grupos	Proteinuria 24h (mg/24h/100g de PC)	Creatinina Plasmática ($\mu\text{mol/L}$)	Flujo Plasmático Renal Efectivo (mL/min/100g de PC)	Intensidad de Filtración Glomerular (mL/min/100g de PC)	Fracción de Filtración
	C0	1,309	91,80	4,258	0,821	0,194
A	C7	1,290	94,00	4,517	0,892	0,200
	T7	9,709	197,00	1,210	0,258	0,214
B	C28	1,352	96,60	4,287	0,852	0,200
	T28	9,701	201,70	1,460	0,354	0,241
C	C42	1,373	97,40	3,990	0,804	0,202
	T42	9,629	203,60	1,509	0,411	0,272
D	C60	1,387	98,50	3,888	0,787	0,203
	T60	9,228	202,10	1,507	0,441	0,293

La variable Intensidad de Filtración Glomerular es utilizada en la literatura como un indicador para la clasificación del grado de insuficiencia renal por la relación directa que existe entre sus resultados y el estado de la función. En el modelo de ablación renal con Tisuacryl se logró una reducción significativa de esta variable compatible con los reportes de grados ligero y moderado de insuficiencia. En los grupos experimentales se comprobó la reducción de esta variable en el grupo T7, con un efecto según tiempo y una tendencia a la recuperación por los procesos hipertróficos compensadores. Lo anterior se hizo evidente con el grado de significación que se produjo entre T7 y el resto de los grupos experimentales y entre T28 y T60, pero no existió significación entre T42 y T60, lo que evidencia la tendencia a la estabilización de la insuficiencia lograda. Estos hechos coinciden con los reportes de la literatura sobre la tendencia de la intensidad de filtración a conservarse y recuperarse, aumentando el porcentaje que representa del Flujo Plasmático Renal Efectivo. ^{29,30,31}

Fracción de filtración

La fracción de filtración que se determinó en los grupos de trabajo, indicándose la media, se observa cómo fue muy similar esta relación en los grupos controles y en los grupos experimentales tuvo una tendencia a incrementarse según tiempo. Al realizar el ANOVA de esta variable mostró la existencia de efecto en cuanto al tratamiento, al tiempo e interacción tratamiento- tiempo, con valores de p 0.00, $1.9013E-14$ y $4.5385E-12$ respectivamente. No existieron diferencias significativas al comparar los grupos controles para una p de 0.076 y sí al comparar tratamiento contra controles para una p de 0.00. El Tukey, Test de comparaciones de múltiples, mostró la existencia de diferencias significativas entre controles y experimentales de igual serie y de series distintas. Al comparar el grupo C7 con T7 no mostró diferencias significativas, como excepción, con una p de 0.08 y sí existieron diferencias significativas entre T7 y T28 para una p de 0.00026; T7 y T42; T7 con T60 con una p de 0.00012 en ambos casos. Además no existieron diferencias significativas entre T42 y T60 para una p de 0.097. (Tabla).

Tabla. Medias de las variables del estudio

Serie	Grupos	Proteinuria 24h (mg/24h/100g de PC)	Creatinina Plasmática ($\mu\text{mol/L}$)	Flujo Plasmático Renal Efectivo (mL/min/100g de PC)	Intensidad de Filtración Glomerular (mL/min/100g de PC)	Fracción de Filtración
	C0	1,309	91,80	4,258	0,821	0,194
A	C7	1,290	94,00	4,517	0,892	0,200
	T7	9,709	197,00	1,210	0,258	0,214
B	C28	1,352	96,60	4,287	0,852	0,200
	T28	9,701	201,70	1,460	0,354	0,241
C	C42	1,373	97,40	3,990	0,804	0,202
	T42	9,629	203,60	1,509	0,411	0,272
D	C60	1,387	98,50	3,888	0,787	0,203
	T60	9,228	202,10	1,507	0,441	0,293

En esta variable Fracción de Filtración se destacó la correspondencia entre los resultados del grupo C7 y T7, lo que explica cómo al reducirse bruscamente la masa renal se produjo una caída proporcional del FPRE y de la IFG. Se distingue además cómo se produjo un aumento de la FF según tiempo, que tendió a estabilizarse en los grupos T42 y T60 entre los que no existen diferencias significativas. Este hecho está en correspondencia con la tendencia a conservar la IFG.^{32,33,34}

CONCLUSIONES

1. Se evaluó un modelo de Insuficiencia Renal Crónica en ratas con el uso del Tisuacryl, lo que ha permitido comprobar cómo este modelo ha llegado a replicar las condiciones en humanos.

2. Se determinan como variables fundamentales para indicar la evaluación del grado de Insuficiencia la proteinuria, la creatinina plasmática, el FPRE y IFG, justificando el grado de insuficiencia, los cuales transitan para este modelo por moderado y ligero.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. De Francisco AL, Sanjuán F, Foraster A, Fabado S, Carretero D, Santamaría C, Aguilera J, Alcalá MI, Aljama P. Epidemiological study on chronic renal failure elderly patients on hemodialysis. *Nefrología*. 2008; 28(1): 48-55.
2. Teruel Briones JL, Gomis Couto A, Sabater J, Fernández Lucas M, Rodríguez Mendiola N, Villafruela JJ, Quereda C. Validation of the Chronic Kidney Disease Epidemiology Collaboration (CKD-EPI) equation in advanced chronic renal failure. *Nefrología*. 2011, Nov; 25; 31(6): 677-682.
3. Lorenzo V. Chronic renal failure outpatient clinic. A 12 years experience. *Nefrología*. 2007; 27(4): 425-33.
4. Perry EE, Zheng K, Ferris ME, Torres L, Bickford K, Segal JH. Invited manuscript poster on renal-related education American Society of Nephrology. Adolescents with chronic kidney disease and their need for online peer mentoring: a qualitative investigation of social support and healthcare transition. *Ren Fail*. 2011; 33(7): 663-8.
5. Webb L, Casula A, Ravanan R, Caskey F. UK Renal Registry 13th Annual Report (December 2010): Chapter 3: Demographic and biochemistry profile of kidney transplant recipients in the UK in 2009: national and centre-specific analyses. *Nephron Clin Pract*. 2011; 119 (Suppl 2): 53-84.
6. Torres C. Apuntes sobre la historia de la nefrología en los últimos 50 años. *Nefrología*. 2006; 16(48): 39.
7. Adhikary L, Koirala A, Gautam B, Gurung A. Effective control of hypertension in adults with chronic kidney disease. *JNMA J Nepal Med Assoc*. 2010, Oct-Dec.; 50(180): 291-4.
8. Vrtovsnik F, Coester AM, Lopes-Barreto D, de Waart DR, Van der Wal AC, Struijk DG, Krediet RT, Zweers MM. Induction of chronic kidney failure in a long-term peritoneal exposure model in the rat: effects on functional and structural peritoneal alterations. *Perit Dial Int*. 2010, Sep-Oct; 30(5): 558-69.
9. Teixeira AM, Garrido P, Santos P, Alves R, Parada B, Costa E, Almeida A, Teixeira-Lemos E, Sereno J, Pinto R, Belo L, Santos-Silva A, Teixeira F, Reis F. Recombinant human erythropoietin treatment protects the cardio-renal axis in a model of moderate chronic renal failure. *Ren Fail*. 2010; 32(9): 1073-80.
10. Savard S, Lavoie P, Villeneuve C, Agharazii M, Lebel M, Larivière R. eNOS gene delivery prevents hypertension and reduces renal failure and injury in rats with reduced renal mass. *Nephrol Dial Transplant*. 2011, Nov 25.
11. Lu Z, Xie Y, Liu X, Cui S, Wu Y, Cai C, Zhang L, Chen X. Effect of 5/6 nephrectomized rat serum on epithelial-to-mesenchymal transition in vitro. *Ren Fail*. 2011; 33(6): 600-8.

12. Vavrínek P, van Dokkum RP, Goris M, Buikema H, Henning RH. Losartan protects mesenteric arteries from ROS-associated decrease in myogenic constriction following 5/6 nephrectomy. *J Renin Angiotensin Aldosterone Syst.* 2011, Sep; 12(3): 184-94.
13. Xing RL, Meng DM, Ren W. Exploration on the establishment of animal models for gouty nephropathy complicated with chronic renal failure. *Zhongguo Zhong Xi Yi Jie He Za Zhi.* 2011, Oct; 31(10): 1409-13.
14. Villanueva S, Ewertz E, Carrión F, Tapia A, Vergara C, Céspedes C, Sáez PJ, Luz P, Irarrázabal C, Carreño JE, Figueroa F, Vio CP. Mesenchymal stem cell injection ameliorates chronic renal failure in a rat model. *Clin Sci (Lond).* 2011, Dec.; 121(11): 489-99.
15. Haunik P. *Physiological Chemest Baernal book company.* 1965.
16. Brot Mj. The clearance endogenous "creatinine" in man. *J Clin Invest.* 1948; 27: 645.
17. Cohen ML. *Radionuclide Clearance Techniques. Seminar in nuclear medicine* 1974, p.1.
18. Bratton A, Marshall E. A new coupling component for sulfonilamide determination. *J. BiolChem.* 1939; 128: 537.
19. Smith H, Tinkeltein N. The renal clearance of substituted hipuric acid derivatives and other aromatic acids in dog and man. *J Clin Invest.* 1965; 24: 388.
20. García García M, Martínez Ocaña JC, Rodríguez Jornet A, Almirall J, Ponz E, Ibeas J, López Alba T. Choosing not to dialysis in chronic renal failure in stage V (Renal Failure). Evolution of the characteristics of patients between 1992-1995 and 2000-2003. *Nefrología.* 2007; 27(5): 574-80.
21. Grimoldi IA, Briones LM, Ferraris JR, Rodríguez Rilo L, Sojo E, Turconi A, Wainberg E, Zalba J, Sepliansky A; Comité Nacional de Nefrología. Chronic renal failure, dialysis and transplant: multicentric study: 1996-2003. *Arch Argent Pediatr.* 2008, Dec.; 106(6): 552-9.
22. Cho KH, Kim HJ, Rodríguez-Iturbe B, Vaziri ND. Niacin ameliorates oxidative stress, inflammation, proteinuria, and hypertension in rats with chronic renal failure. *Am J Physiol Renal Physiol.* 2009, Jul; 297(1): 106-13.
23. Garrido P, Reis F, Costa E, Teixeira-Lemos E, Parada B, Alves R, Piloto N, Sereno J, Figueiredo A, Pinto R, Carvalho L, Rocha-Pereira P, Belo L, Santos-Silva A, Teixeira F. Characterization of a rat model of moderate chronic renal failure—focus on hematological, biochemical, and cardio-renal profiles. *Ren Fail.* 2009; 31(9): 833-42.
24. Tanaka M, Yoshida H, Furuhashi M, Togashi N, Koyama M, Yamamoto S, Yamashita T, Okazaki Y, Ishimura S, Ota H, Hasegawa T, Miura T. Deterioration of Renal Function by Chronic Heart Failure is Associated with Congestion and Oxidative Stress in the Tubulointerstitium. *Intern Med.* 2011; 50(23): 2877-87.
25. Kielstein JT, Suntharalingam M, Perthel R, Rong S, Martens-Lobenhoffer J, Jäger K, Bode-Böger SM, Nave H. Asymmetric dimethylarginine may mediate

increased heat pain threshold in experimental chronic kidney disease. *Nephrol Dial Transplant*. 2011, Nov. 29.

26. Caravaca F, Villa J, García de Vinuesa E, Martínez Del Viejo C, Martínez Gallardo R, Macías R, Ferreira F, Cerezo I, Hernández-Gallego R. Relationship between serum phosphorus and the progression of advanced chronic kidney disease. *Nefrología*. 2011, Nov 25;31(6): 707-715.

27. Heras M, Guerrero MT, Fernández-Reyes MJ, Sánchez R, Muñoz A, Macías MC, Molina A, Prado F, Alvarez-Ude F. Laboratory manifestations associated with chronic renal failure: what degree of estimated glomerular filtration can be used for its detection in the elderly?. *Rev Esp Geriatr Gerontol*. 2009, May-Jun;44(3):143-5.

28. Svíglerová J, Kuncová J, Nalos L, Tonar Z, Rajdl D, Stengl M. Cardiovascular parameters in rat model of chronic renal failure induced by subtotal nephrectomy. *Physiol Res*. 2010;59 (Suppl 1):S81-8.

29. Sharma P, Blackburn RC, Parke CL, McCullough K, Marks A, Black C. Angiotensin-converting enzyme inhibitors and angiotensin receptor blockers for adults with early (stage 1 to 3) non-diabetic chronic kidney disease. *Cochrane Database Syst Rev*. 2011, Oct. 5;(10).

30. Iwasaki Y, Kazama JJ, Yamato H, Fukagawa M. Changes in chemical composition of cortical bone associated with bone fragility in rat model with chronic kidney disease. *Bone*. 2011, Jun 1;48(6):1260-7.

31. Teruel JL, Sabater J, Galeano C, Rivera M, Merino JL, Fernández Lucas M, Marcén R, Ortuño J. The Cockcroft-Gault equation is better than MDRD equation to estimate the glomerular filtration rate in patients with advanced chronic renal failure. *Nefrología*. 2007;27(3):313-9.

32. De Graaff M, Vlijm A, Zweers MM, Coester AM, Vandemaele F, Struijk DG, Krediet RT. Addition of a nitric oxide inhibitor to a more biocompatible peritoneal dialysis solution in a rat model of chronic renal failure. *Adv Perit Dial*. 2010;26: 7-11.

33. Bongartz LG, Braam B, Verhaar MC, Cramer MJ, Goldschmeding R, Gaillard CA, Steendijk P, Doevendans PA, Joles JA. The nitric oxide donor molsidomine rescues cardiac function in rats with chronic kidney disease and cardiac dysfunction. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2010, Dec;299(6):2037-45.

34. Damment S, Secker R, Shen V, Lorenzo V, Rodriguez M. Long-term treatment with lanthanum carbonate reduces mineral and bone abnormalities in rats with chronic renal failure. *Nephrol Dial Transplant*. 2011, Jun;26(6):1803-12.

Recibido: 14 de enero de 2012.

Aprobado: 10 de octubre de 2012.