

49  
22



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA  
DE MEXICO**

**FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES  
CUAUTITLAN**

**"ACTUALIZACION DE LOS METODOS  
DE ESTUDIO DE INSUFICIENCIA RENAL  
EN DIFERENTES PATOLOGIAS"**

**T E S I S**

**QUE PARA OBTENER EL TITULO DE  
QUIMICA FARMACEUTICA BIOLOGA**

**P R E S E N T A:  
MA. LUISA ZARAGOZA RODRIGUEZ**

**A S E S O R:  
Q. B. P. ANTONIO SANCHEZ ORTEGA**



**CUAUTITLAN IZCALLI, EDO. DE MEX.**

**1996**

**TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN**

**TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN**



Universidad Nacional  
Autónoma de México



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.



GOBIERNO NACIONAL  
AVENIDA F  
MEXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLAN  
UNIDAD DE LA ADMINISTRACION ESCOLAR  
DEPARTAMENTO DE EXAMENES PROFESIONALES

U. N. A. M.  
FACULTAD DE ESTUDIOS  
SUPERIORES CUAUTITLAN

ASUNTO: VOTOS APROBATORIOS



Departamento de  
Exámenes Profesionales

DR. AIME MELLER TORRES  
DIRECTOR DE LA FES-CUAUTITLAN  
P R E S E N T E .

ATN: Ing. Rafael Rodríguez Ceballos  
Jefe del Departamento de Exámenes  
Profesionales de la F.E.S. - C.

Con base en el art. 2º del Reglamento General de Exámenes, nos permitimos comunicar a usted que revisamos la TESIS TITULADA:

"Actualización de los métodos de estudios de insuficiencia renal en diferentes patologías".

que presenta La pasante: Ma. Luisa Zaragoza Rodriguez  
con número de cuenta: 8240817-8 para obtener el TITULO de:  
Química Farmacéutica Bióloga.

Conse derando que dicha tesis reúne los requisitos necesarios para ser discutida en el EXAMEN PROFESIONAL correspondiente, otorgamos nuestro VOTO APROBATORIO.

A T E N T A M E N T E .

"POR MI RAZA HABLARA EL ESPIRITU"

Cuautitlán Izcalli, Eco. de Mex., a 6 de Marzo de 1996

PRESIDENTE	Q.F.B. Ramón Cendejas Ramirez	
VOCAI.	Q.F.B. Idalia Avila Miyazawa	
SECRETARIO	Q.B.P. Antonio Sánchez Ortega	
PRIMER SUPLENTE	M.en C. Victor M. Zendejas Buitrón	
SEGUINDO SUPLENTE	Q.F.B. René Damián Santos	

## DEDICATORIA

### A DIOS

Por darme vida y perseverancia  
para llegar hasta donde he lle-  
gado.

### A MIS PADRES

Por su amor, apoyo y confianza  
para realizar mis sueños.

### A MIS HERMANOS

Teresa, Gonzalo, Altagracia,  
Roni, Patricia, Aurora, Joel  
y Bibiana por los momentos  
compartidos y su apoyo pa-  
ra salir siempre adelante.

### A MIS AMIGOS

Claudia, Angelina, Laura, Alfonso,  
Haroldo, Carmen, Roberto y Bertha  
por su amistad y entusiasmo.

## AGRADECIMIENTOS

Q.B.P Antonio Sánchez Ortega director  
de la tesis, por su apoyo en la realiza  
ción de la misma.

A los miembros del jurado por su tiempo

A la UNAM, muy en especial a la FES-C por  
brindarme la oportunidad de realizarme  
profesionalmente.

# INDICE

	Pág.
Introducción	1
Objetivos	3
Generalidades	4
1.- Anatomía renal	4
1.1.- Localización	4
1.2.- Anatomía externa	4
1.3.- Anatomía interna	5
1.4.- Nefrona	7
1.5.- Glomérulo	8
1.6.- Túbulo contorneado proximal	9
1.7.- Asa de Henle	10
1.8.- Túbulo contorneado distal	11
1.9.- Túbulo colector	11
2.0.- Fisiología renal	12
2.1.- Filtración glomerular	12
2.2.- Absorción y secreción tubular	15
2.3.- Absorción y secreción de sodio	17
2.4.- Absorción y secreción de potasio	22
2.5.- Transporte de bicarbonato	26
2.6.- Transporte de glucosa	28
2.6.1.- Transporte de aminoácidos	28
2.6.2.- Transporte de proteínas	29
2.6.3.- Transporte de ácido úrico	30
2.6.4.- Transporte de fosfatos	30
2.6.5.- Transporte de ácidos y bases débiles	31
2.6.6.- Transporte de Urea	32

2.7.-	Dilución y concentración de orina	34
2.8.-	Equilibrio ácido base	36
2.8.1.-	Sistema amortiguador bicarbonato ácido carbónico	38
2.8.2.-	Sistema amortiguador de fosfatos	39
2.8.3.-	Sistema amortiguador de proteínas	40
2.8.4.-	Sistema amortiguador de hemoglobina	41
2.8.5.-	Sistema amortiguador de amonio amoniaco	42
3.0.-	Patologías asociadas a insuficiencia renal	43
3.1.-	Insuficiencia renal	43
3.2.-	Transtornos ácido base	43
3.2.1.-	Acidosis metabólica	44
3.2.2.-	Alcalosis metabólica	47
3.3.-	Glomerulonefritis	51
3.4.-	Síndrome nefrótico	53
3.5.-	Insuficiencia renal aguda	55
3.6.-	Diabetes mellitus	57
3.7.-	Insuficiencia renal crónica	58
4.0.-	Métodos de estudios en la insuficiencia renal crónica	61
4.1.-	Urea	67
4.1.1.-	Método de Berthelot	67
4.1.2.-	Método de ureasa	69
4.1.3.-	Método de DAM	71
4.2.-	Creatinina	74
4.2.1.-	Depuración	76
4.2.2.-	Cromatografía	81
4.2.3.-	Método de Jaffé	83
4.2.4.-	Método cinético de Jaffé	86
4.2.5.-	Iminohidrolasa	87
4.2.6.-	Amidohidrolasa	89

4.2.7.- Cromatografía líquida de alta presión (HPLC)	91
4.3.- Inulina	93
4.3.1.- Administración y preparación de inulina	94
4.3.2.- Método de Henrovsky	98
4.3.3.- Método enzimático	100
4.3.4.- Método enzimático automatizado	103
4.3.5.- Método de Antrone	104
4.4.- Acido P-aminohipurico	105
4.4.1.- Administración y preparación del PAH	108
4.4.2.- Método de Varley	110
4.4.3.- Método HPLC	114
Análisis de métodos	116
Resumen	121
Referencias	123

## INDICE DE TABLAS Y FIGURAS

	Pág.
TABLA 1.- ALTERACIONES DEL EQUILIBRIO ACIDO BASE	50
TABLA 2.- PATOLOGIAS ASOCIADAS A LA INSUFICIENCIA RENAL	60
TABLA 3.- INVESTIGACIONES MINIMAS EN PACIENTES CON DAÑO RENAL	64
TABLA 4.- METODOS PARA EL ANALISIS DE LA CREATININA	79
FIGURA 1.- CONCENTRACION DE INULINA EN PLASMA EN PERSONAS SANAS	97
FIGURA 2.- CONCENTRACION DE INULINA EN PLASMA EN PERSONAS CON DETERIORO RENAL	97
FIGURA 3.- RELACION ENTRE EL ACLARAMIENTO TOTAL DE PAH Y LA EDAD	107

## INDICE DE ABREVIATURAS

ADH	HORMONA ANTIDIURETICA
ATPasa de Na <sup>+</sup> y K <sup>+</sup>	ADENOSINA-TRIFOSFATASA ACTIVADA DE SODIO Y POTASIO
HCO <sub>3</sub>	BICARBONATO
H <sub>2</sub> CO <sub>3</sub>	ACIDO CARBONICO
IFG	INDICE DE FILTRACION GLOMERULAR
FPR	FLUJO PLASMATICO RENAL
GN	GLOMERULONEFRITIS
SN	SINDROME NEFROTICO
IRA	INSUFICIENCIA RENAL AGUDA
IRC	INSUFICIENCIA RENAL CRONICA
HPLC	CROMATOGRAFIA LIQUIDA DE ALTA PRESION
PAH	ACIDO PARA AMINO HIPURICO

## INTRODUCCION

Los riñones son los órganos de secreción externa urinaria y como tales, son los principales órganos depuradores de los productos finales del metabolismo orgánico, los cuales, si no se eliminan, se acumulan rápidamente en el organismo y lo intoxican. (64,97).

En 1840, Pirry inventó la palabra uremia que significa "orina en sangre", para expresar el cuadro clínico que aparece en los enfermos con insuficiencia del poder eliminador de los riñones. Con los métodos para medir la función renal, se demostró que en la uremia existe siempre un menoscabo en la función renal y por eso puede emplearse el término de insuficiencia renal como sinónimo de uremia o azoemia. (6,73).

Cuando se habla de insuficiencia renal crónica, se entiende que el riñón es incapaz de realizar normalmente sus funciones, produciendo con esto una reducción del filtrado glomerular. A medida que esta función empieza a deteriorarse, los estudios del laboratorio proporcionan datos importantes sobre su valoración. (62).

En la determinación de la insuficiencia renal crónica, es importante la determinación del índice de filtración glomerular, ya que esta variable indica la forma óptima de la capacidad de los riñones para mantener la composición de los líquidos corporales, en un adulto normal el volumen del filtrado glomerular es de aproximadamente 125ml/min. (102).

En la insuficiencia renal crónica la filtración glomerular está seriamente disminuida, por lo que se observan en el paciente una serie de manifestaciones clínicas como son: anemia, hipertensión arterial, vómitos, anorexia y oliguria, entre otras. Las enfermedades que con mayor frecuencia causan insuficiencia renal, son en su mayoría, las diferentes variedades de glomerulonefritis en un 60% de los casos, la pielonefritis, síndrome nefrótico, diabetes y lupus eritomatoso sistémico ocupan el 40% restante. (6,55,81).

El método más ampliamente usado para medir las sustancias que son completamente filtradas o excretadas por los riñones es el "clearance" o aclaramiento. (10)

Las pruebas clínicas para medir la función renal, forman parte de la evaluación de todos los pacientes, estas pruebas ofrecen una estimación del índice de filtración y de la función tubular y como tales, ofrecen una estimación muy valiosa para el médico. (10, 60).

## **OBJETIVOS**

- 1.0 Revisión de la fisiología renal como conocimiento previo para el diagnóstico clínico por el laboratorio de alteraciones renales.
- 1.1 Revisión y actualización de los métodos empleados en el diagnóstico de insuficiencia renal en diferentes patologías.
- 1.2 Comparación entre métodos por su uso, facilidad y disponibilidad de realización.

## GENERALIDADES

### ANATOMIA RENAL

#### 1.1 LOCALIZACION

Los riñones son órganos que semejan la forma de un frijol, se localizan entre el peritoneo y la pared del abdomen a nivel de la última vértebra torácica y la tercera lumbar, los protegen parcialmente el undécimo y duodécimo par de costillas. La localización del riñón derecho es un poco inferior con relación al izquierdo, en virtud del área ocupada por el hígado. (97,13,98).

#### 1.2. ANATOMIA EXTERNA

En promedio, el riñón del adulto mide unos 11.25 cm de longitud, de 5.0-7.5 cm de ancho y 3.0 cm de profundidad, pesa alrededor de 150-160 g, siendo algo inferior en la mujer. El peso del riñón varía en función del sexo y de la edad. El borde medial cóncavo del riñón está dirigido hacia la columna vertebral y cerca del centro de dicho borde se observa una incisura denominada hilio que constituye el punto de entrada y salida de nervios, vasos linfáticos y vasos sanguíneos del riñón. (97,98).

El parénquima renal está cubierto por tres capas de tejido. La más interna de ellas es la cápsula fibrosa, membrana fibrosa transparente y lisa, la que se puede desprender con facilidad del riñón. Esta membrana constituye una barrera contra los traumatismos y la diseminación de las infecciones a los riñones. (97).

La segunda capa o cápsula adiposa, es una masa de tejido graso que rodea a la cápsula fibrosa; también protege al riñón contra los traumatismos y lo fija en el lugar que le corresponde en la cavidad abdominal. La capa externa es la fascia renal, delgada capa de tejido conectivo fibroso que une a los riñones con las estructuras vecinas y la pared abdominal. (97,98).

### 1.3 ANATOMIA INTERNA

El corte frontal del riñón revela un área externa y rojiza denominada corteza y la otra interna es la médula.

A la corteza se le divide en porciones granulosa externa y yuxtamedular interna; en igual forma, la médula consta de dos zonas, externa e interna. La médula incluye estructuras triangulares a las que se le denomina pirámides de Malpighi; su aspecto estriado se debe a la presencia de los túbulos rectos y vasos sanguíneos; la base de cada pirámide está dirigida hacia el área cortical y el vértice, al que se le denomina papila renal, hacia el centro del riñón. (98,97).

La corteza es la capa de textura suave que abarca desde la cápsula fibrosa hasta la base de las pirámides y penetra en los espacios existentes entre estas últimas, formando las columnas renales. La corteza y las pirámides renales constituyen en forma conjunta el parénquima del riñón, que desde el punto de vista estructural, consiste en un millón de unidades microscópicas llamadas nefronas. (97,13).

Formando parte también de la estructura interna, se encuentra el seno renal,

en el cual existe un gran espacio al que se le denomina pelvis renal. En el borde de esta última se observan extensiones a manera de capas, las llamadas cálices renales mayores, que se encuentran de 2 a 3 y los cálices menores que se hallan de 7 a 13. Cada uno de estos cálices renales menores drenan la orina que llega a los conductos colectores. De ellos, la orina pasa a través del uréter. (97).

## 1.4 NEFRONA

La unidad funcional del riñón es la nefrona, hay aproximadamente un millón de nefronas en cada riñón humano. Están ordenadas en un patrón complejo que permite la función integrada. La primera parte de la nefrona es una cápsula, la llamada cápsula de Bowman, de pared doble, que se localiza en la corteza renal, la capa interna de la pared de la cápsula se le conoce como capa visceral, ésta rodea la red capilar que es el glomérulo, en forma conjunta a la cápsula y el glomérulo se le denomina corpúsculo renal, el cual está constituido por unidades circulatorias que permiten la ultrafiltración de la sangre. (100).

La nefrona se continúa por el túbulo contorneado proximal, que está situado en la corteza del riñón, el siguiente segmento es el asa de Henle que es una continuación del túbulo, la cual debido a su disposición anatómica y estructural de su pared, permite que la orina se concentre. El asa de Henle penetra en la médula cortical, desciende a la pirámide medular y luego regresa al mismo glomérulo de donde surgió. (103).

El resto de la nefrona está formado por un túbulo contorneado distal y un túbulo colector. (100,103).

## 1.5 GLOMERULO

También llamado corpúsculo renal, semeja la forma de una esfera, que posee un polo urinario donde se inserta el túbulo proximal y un polo vascular, donde penetrará la arteriola aferente y sale la arteriola eferente. El glomérulo está formado por un ovillo central o flóculo, por asas capilares, por una envoltura periférica y por un espacio urinario. (41,98).

La pared del capilar glomerular a través del cual se efectúa la filtración, está compuesta de tres capas: endotelio, membrana basal y epitelio.

El endotelio está compuesto por células aplanadas cuyos núcleos, adquieren forma convexa con la luz. La membrana basal separa el epitelio del endotelio y del mesangio, el grosor de la membrana basal varía con la edad. La membrana está compuesta por ácido siálico, glucosa, manosa, galactosa y contiene grupos aniónicos y es el responsable de la actividad eléctrica negativa de la membrana. (41).

El epitelio está formado por células grandes llamadas podocitos y por último las células mesangiales o axiales, ricas en filamentos semejantes a la miosina que limitan a las células endoteliales con la membrana basal. (41,72).

El espacio urinario es un espacio comprendido entre la cápsula y el flóculo y se comunica con la luz del túbulo proximal, en este espacio se acumula el ultrafiltrado del plasma producido a nivel de los glomérulos. (41,72).

## 1.6 TUBULO CONTORNEADO PROXIMAL

El túbulo contorneado proximal es el segmento más largo de la nefrona, está formado por células piramidales dispuestas en capa única. El núcleo es redondo y voluminoso y su citoplasma es rico en mitocondrias alargadas, de disposición perpendicular a la membrana basal.

La superficie luminal de las células presenta numerosas microvellosidades que disminuyen en la porción recta; estando presentes en esta zona gran cantidad de ATPasa y fosfatasa alcalina.

Los espacios intercelulares laterales se encuentran unidos entre sí, en el extremo que mira a la luz tubular por el engrosamiento de la membrana celular, denominado barrera terminal; estos espacios, también tienen un alto contenido en ATPasa, Na, K y Mg dependientes, juntos con adenilciclasas.

En la parte descendente de los túbulos proximales, las células se hacen más pequeñas y cuboideas, su contenido mitocondrial se dispone al azar y disminuyen los lisosomas, ricos en fosfatasas e hidrolasas. (98,103).

## 1.7 ASA DE HENLE

Las nefronas de la parte exterior de la corteza dan origen a las asas de Henle cortas, en tanto que las nefronas yuxtamedulares se caracterizan por asas largas que penetran profundamente en la médula antes de regresar a la corteza. Estructuralmente, el asa de Henle está constituida por tres segmentos: el segmento delgado (subdividido en la rama descendente delgada y ascendente delgado), la rama descendente gruesa y la rama ascendente gruesa. (103).

Las células de la rama descendente gruesa son similares a las del túbulo proximal; el segmento delgado es relativamente corto en las nefronas de la parte exterior de la médula, en contraste con el segmento delgado muy largo en la nefrona yuxtamedulares. (103).

La rama ascendente gruesa se inicia cerca del límite de las porciones exterior de la médula y se extiende a la región del túbulo distal en el aparato yuxtamedular, las células de la rama ascendente gruesa son mucho más gruesas que las del segmento delgado y contienen grandes y abundantes mitocondrias. (74).

## 1.8 TUBULO DISTAL

El túbulo distal nace del segmento delgado del asa, sigue un trayecto casi rectilíneo hasta la región del corpúsculo renal, en la región donde el túbulo distal hace contacto con las arteriolas aferente del corpúsculo renal, hay muchas células cilíndricas que forman una placa llamada mácula densa. El túbulo contorneado distal difiere morfológicamente del túbulo proximal, pues está constituido por células más cortas y menos acidófilas y tienen escasas microvellosidades. El túbulo distal es más corto que el proximal y menos contorneado, se continúa con el túbulo colector por un arco o segmento de transición formado por células granulosas oscuras, mezcladas con células transparentes del túbulo colector. (74).

## 1.9 TUBULO COLECTOR

El túbulo colector está formado por dos tipos de células; las claras o principales y oscuras. Las células claras, son cuboideas, de núcleo central redondo y citoplasma claro con escasas mitocondrias. Su aparato de Golgi es prominente, las microvellosidades son pequeñas y escasas, la superficie basal de las células está surcada de pequeñas invaginaciones o pliegues, las células oscuras son similares a las finales del túbulo distal, tienen microvellosidades más amplias y numerosas, estas células son más frecuentes en la corteza y médula externa. (41,98).

## C A P I T U L O 2

### 2.0 FISILOGIA RENAL

Las nefronas llevan a cabo la mayor parte de la actividad del aparato urinario y las partes restantes del mismo, son principalmente conductos de excreción y áreas de almacenamiento.

Las nefronas llevan a cabo tres funciones muy importantes: regulan la concentración y volumen de la sangre al extraer de la misma, cantidades específicas de agua y soluto; participan en la regulación del pH sanguíneo y extraen desechos tóxicos de la sangre. (64)

Al llevar a cabo estas actividades, las nefronas extraen de la sangre muchos materiales, a la sangre regresan los requeridos por el organismo y eliminan los restantes en la orina. (98,73).

En la formación de la orina intervienen tres fenómenos principales: filtración glomerular, reabsorción tubular y secreción tubular. (98).

### 2.1 FILTRACION GLOMERULAR

La primera etapa de formación de la orina se realiza por un proceso de filtración selectiva que separa el agua del plasma y sus componentes no protéicos.

La primera parte de la filtración pasa a la circulación sistémica a través

de las células tubulares y constituye el sustrato para el mantenimiento del medio interno. (64,73,102).

En adulto normal, el filtrado glomerular es de aproximadamente 120 ml/min, pero solamente 1 ml/min de la filtración es excretada en la orina conteniendo los productos del catabolismo nitrogenado que han de ser eliminados del organismo. (103).

La filtración se produce en el seno del capilar glomerular, tanto por su constante y elevada presión hidrostática a lo largo del mismo como por sus características electrofísicas debidas a las cargas negativas existentes en la superficie de casi todos sus componentes, que actúan como filtros selectivos y barrera electrostática, seleccionando a las sustancias en base a su peso molecular, a su forma, a la capacidad de formación de las moléculas y carga eléctrica. (98,73,64).

El endotelio del capilar glomerular debido a sus poros no representa una verdadera barrera, permitiendo el paso de grandes moléculas, pero posteriormente, estas mismas moléculas serán retenidas por la propia membrana basal. Las moléculas catiónicas atraviesan con más facilidad esta barrera que las neutras y aniónicas del mismo tamaño, dado que estas últimas son repelidas por sus cargas negativas. (98).

Por otra parte, existen múltiples factores que son determinantes para la filtración glomerular como son:

- En circunstancias patológicas, se puede alterar tanto la permeabilidad como

el área efectiva de filtración, siendo el hallazgo de proteínas en orina, lo que sugiere un incremento en la permeabilidad.

- El coeficiente de filtración también se ve afectado por sustancias vasoactivas y hormonales.

- Variaciones del tono arteriolar glomerular, tanto aferente como eferente, pueden influir sobre la presión hidrostática capilar o sobre el flujo plasmático y como consecuencia, variar la velocidad de filtración.

- La disminución de la resistencia vascular de la arteriola aferente (vasodilatación) y el aumento de la arteriola eferente (vasoconstricción), provocan una reducción de la presión de filtración con lo que disminuye la filtración glomerular, pese a que el principio permanece constante.

- Variaciones de la presión coloidosmótica u oncótica de las proteínas del plasma.

- La hemodilución o hemoconcentración provoca descenso o aumento respectivamente, de las proteínas plasmáticas y como consecuencia, aumento o disminución del filtrado glomerular por cambios en la presión media de filtración.

- El aumento de la presión hidrostática tubular, bien por obstrucción de tipo mecánico, como por aumento del flujo tubular, disminuyen la presión eficaz de la filtración. (41, 73, 98, 97).

## 2.2 ABSORCION Y SECRECION TUBULAR

El índice de filtración glomerular es el volumen de filtrado que sale de todos los corpúsculos renales cada minuto, en el adulto normal es de 125 ml/min, sin embargo, conforme el filtrado pasa por los túbulos renales es absorbido por la sangre, en otras palabras, sólo cerca del 25% del filtrado finalmente sale del organismo, 1-2 ml/min. (98).

El paso del filtrado hacia la sangre que circula por los capilares peritubulares, recibe el nombre de reabsorción tubular, se trata de un proceso, donde se reabsorben solamente cantidades específicas de las sustancias filtradas de acuerdo a las necesidades del organismo. Las sustancias reabsorbidas incluyen: agua, glucosa, aminoácidos, iones como  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Ca}^{+2}$ ,  $\text{Cl}^-$ , y  $\text{HCO}_3^-$ . (98, 97).

La reabsorción se lleva a cabo mediante mecanismos de transporte activo y pasivo.

En la forma activa se requiere consumo de energía directamente procedente del metabolismo intracelular suministrada por el ATP, siendo ésta necesaria para bombear frente al gradiente de concentración químico o potencial eléctrico. (97).

La forma pasiva se efectúa por difusión de dos tipos de mecanismos:

1.- Gradiente de concentración químico (paso de partículas del lado de mayor concentración al de menor concentración).

2.- Gradiente de potencial eléctrico (los aniones tienden a desplazarse hacia el lado donde predominan las cargas positivas, mientras que los cationes lo hacen en dirección opuesta).

El fenómeno opuesto a la reabsorción, es la secreción, las sustancias que pasan al filtrado en este fenómeno son:  $K^+$ ,  $H^+$  amoniaco, creatinina y algunos fármacos. La secreción tubular ejerce dos efectos principalmente: permite al organismo liberarse de algunas sustancias y regula el pH. (97, 98).

### 2.3 TRANSPORTE Y EXCRECION DE SODIO

En la mayor parte de circunstancias fisiológicas del ser humano, el equilibrio del sodio se mantiene constante, es decir, que las entradas y salidas de este catión son las mismas. Si no hay sudoración profusa o pérdidas gastrointestinales, la vía principal de eliminación del sodio es la de la orina. El riñón, es por tanto, el órgano principal que interviene en la regulación del equilibrio sódico. (71, 97).

El contenido promedio de sodio de una dieta normal, es de aproximadamente 155 mmol/24 hrs. De éste, cerca de 2.5 mmol son excretadas en el sudor y otro tanto en las heces; los 150 mmol restantes son excretados a través de los riñones. (41, 67).

Aproximadamente un 65% del sodio se reabsorbe en el túbulo proximal, un 25% en el asa del Henle y del 4-8% en el túbulo distal, el sodio restante se reabsorbe en toda la longitud del túbulo colector. (41).

El sodio tiene dos funciones muy importantes que se reflejan en la complejidad de su manejo renal.(1) Junto con sus aniones acompañantes, es el principal soluto extracelular. Por tanto, su homeostasia es esencial para mantener el volumen del líquido extracelular.(2) El transporte de sodio por la adenosina-trifosfatasa activada de sodio y potasio (Na, K-ATPasa) es el principal proceso de transporte activo primario en el riñón. (14,80,41).

El transporte activo de sodio por el nefrón es necesario no sólo para su

propia excreción, sino también para dirigir la excreción urinaria de los otros solutos del agua. (80).

El sodio se filtra en el glomérulo y su concentración glomerular es igual a la del plasma, con su anión acompañante, el  $\text{Na}^+$  se reabsorbe activamente en el túbulo proximal, la reabsorción del sodio está estrechamente ligada a la del agua y en este segmento de la nefrona se deben considerar juntas. (80).

La reducción del índice de filtración glomerular (IFG) o el incremento en la reabsorción proximal del sodio pueden reducir la excreción distal del sodio y agua. (35, 80).

Por otra parte, el cloruro se reabsorbe en forma activa en la rama ascendente gruesa del asa de Henle, con el sodio moviéndose pasivamente para conservar la neutralidad eléctrica. Por este camino, cerca del 25% del sodio se reabsorbe en el asa, puesto que esta región de la nefrona es impermeable al agua, el proceso conduce a hipotonicidad progresiva del líquido tubular. Es el método principal de producir orina diluida, la reabsorción de cloro y sodio de la rama ascendente es también importante para permitir la concentración urinaria, ya que contribuye a la conservación de la integridad del gradiente de concentración medular. (14,67).

La rama descendente delgada del asa es altamente permeable al agua, sodio y urea. (35,67).

Es el sistema colector, la membrana es relativamente impermeable al cloruro, la reabsorción en este segmento depende del flujo del filtrado. (67).

El transporte de sodio en este segmento se puede alterar por la Aldosterona, ya que un aumento de los valores circulantes de esta hormona causa una elevación en el transporte de sodio. (35).

También en el sistema colector, en ausencia de la ADH (hormona antidiurética) la membrana se vuelve relativamente impermeable al agua y el retiro continuo de sodio es importante como causa de una dilución adicional de orina, sin embargo, en presencia de la ADH, la membrana se vuelve permeable al agua y debido al sistema de contracorriente, permite que la orina se concentre, además de la aldosterona, las prostaglandinas y otras hormonas causan alteración de la reabsorción de sodio en el sistema colector. (35, 71, 67).

La absorción de sodio se lleva a cabo por una serie de fases consecutivas:

- 1.- El sodio se desplaza desde la luz, a través de la membrana celular por un gradiente electroquímico.
- 2.- Mediante un transporte activo, el sodio se desplaza del interior de la célula a dos tipos de canales, un espacio intercelular y las invaginaciones basales celulares. Estos tipos de canales están recubiertos de ATPasa, una enzima que está implicada en el transporte de sodio. El agua sigue al sodio debido a un gradiente osmótico y penetra en los dos canales. (67).
- 3.- Los canales intercelulares y los de las invaginaciones basales conducen directamente al espacio extracelular que rodea los espacios peritubulares. (71, 35, 80, 100).

4.- Los ajustes más importantes para el mantenimiento del equilibrio sódico se producen a través de cambios en la reabsorción tubular, sin embargo, existen además otros factores que influyen en la reabsorción de sodio. (71, 96).

5.- Las alteraciones de la presión arterial o venosa renal, presión uretral, resistencia arteriolar renal o presión oncótica del plasma, pueden dar como resultados grandes cambios en la absorción de sodio y agua.

6.- La hormona antidiurética (ADH). Es un mono-peptido que se sintetiza en los núcleos sapro óptico y paraventricular del hipotálamo; su secreción se ve estimulada por el aumento en la osmolaridad plasmática, reducción del volumen plasmático y disminución en la tensión arterial.

Como consecuencia de esto, hay un aumento de la reabsorción tubular del agua, lo que provoca dilución en los líquidos corporales. (4, 26, 71).

En ausencia de la ADH, tanto el canal colector como el túbulo colector son relativamente impermeables al agua; el fluido tubular hipotónico atraviesa el sistema colector sin sufrir muchas modificaciones emitiendo una orina diluída. (4).

En presencia de ADH, se sustrae agua y el fluido alcanza un equilibrio osmótico y se emite una orina concentrada.

Aldosterona es una hormona córtico suprarrenal que interviene en la reabsorción renal de sodio, participando también en el control del líquido extracelular.

La aldosterona evita que se pierda sodio y potencializa la actividad de la ATPasa de  $\text{Na}^+$  y  $\text{K}^+$ , por lo que regula el volumen del líquido extracelular al controlar la cantidad de sodio retenida. (96).

El sistema renina-angiotensina está involucrado en el control del balance de sodio, pues al parecer deprime de alguna manera la reabsorción tubular de sodio, este sistema es un potencial estimulante de la secreción de aldosterona, ejerciendo los efectos ya mencionados. (4, 71, 96).

## 2.4 TRANSPORTE Y EXCRECION DE POTASIO

En muchos aspectos, el mantenimiento del balance de potasio es vital. Por un lado, una concentración intracelular de potasio elevada es esencial para el cumplimiento óptimo de muchas funciones celulares: (1) para un crecimiento óptimo, (2) para la síntesis de ADN y de proteínas, (3) para la operación adecuada de cualquier sistema enzimático, (4) para el preciso control del volumen celular y el balance ácido-básico normal. Por otro lado, la existencia de una diferencia de concentraciones de potasio a través de las membranas celulares es fundamental para mantener la polarización eléctrica normal de la célula. (14, 97, 103, 67).

El potasio está localizado principalmente en las células y menos del 2% está en el líquido intersticial y plasma. La ingestión habitual de potasio es de 40-100 mmol/día y se pierde en las heces y la orina. (14, 103).

La vía principal a través de la cual el potasio entra en el organismo, no está sujeta a mecanismos específicos de control, sin embargo, existen mecanismos que mantienen el nivel de concentración extracelular de potasio como son:

(1) La captación o pérdida de potasio de las células depende del gradiente de concentración y de la actividad de la ATPasa Na-K que es responsable de la captación del potasio por las células, (2) del pH del organismo, (3) de la concentración hormonal, por último también podemos considerar que la aldosterona, las catecolaminas y la insulina son factores que estimulan el depósito de potasio en los tejidos. (97, 103).

El potasio se filtra libremente en el glomérulo y su concentración en el filtrado glomerular es la misma que en el plasma y aproximadamente un 11% de potasio está unido a proteínas. (14).

El potasio se reabsorbe en el túbulo proximal de tal forma que su concentración permanece constante, la reabsorción no se produce a lo largo de un gradiente de concentración electroquímico, que en la parte inicial del túbulo proximal causaría secreción de potasio, sino probablemente está ligada a la de NaCl y el agua.

Cuando el agua penetra en el espacio intersticial, da lugar a una solución de potasio libre de potencial, el potasio se distribuye por esta membrana en la misma relación que existe a través de otras membranas de la célula y como hay flujo de líquido al exterior, resulta una reabsorción neta de potasio.

Al final del túbulo proximal, se habrá reabsorbido aproximadamente un 70% de potasio filtrado, dependiendo del volumen de líquido que sufre reabsorción. (71, 100).

Alrededor de 20-25% del potasio filtrado, es reabsorbido en la rama ascendente del asa de Henle, es probable que éste sea un proceso pasivo que ocurre a favor del gradiente electroquímico, en el sistema colector la situación es diferente, el sodio sufre una reabsorción activa sin cloruro, lo que origina una diferencia de potencial eléctrico, con luz negativa en relación al plasma.

Esta diferencia de potencial negativo crea un gradiente electroquímico que mueve al potasio al interior de la luz del plasma.

La cantidad de potasio que penetra a la luz depende de varios factores: la concentración de potasio en el plasma, de la velocidad de flujo en la nefrona distal y la diferencia de potencial.

Por otra parte, la excreción de potasio se debe fundamentalmente a las células principales en los túbulos colectores corticales, sin embargo, existen factores que influyen en la excreción de potasio, uno de ellos es la cantidad de potasio ingerida diariamente, el aumento en la ingesta de potasio estimula la secreción de aldosterona que, a su vez induce la secreción tubular distal de potasio. (74).

Otro factor que interviene en la excreción de potasio es el estado ácido-básico, pues en la acidosis metabólica o respiratoria, la excreción renal de potasio disminuye debido al desplazamiento del catión de las células por el ión hidrógeno, con reducción del potasio disponible para la secreción tubular. En la alcalosis metabólica o respiratoria, la excreción renal de potasio está aumentada, dado que la concentración baja del ión hidrógeno extracelular, conduce al potasio hacia las células de los túbulos renales, incrementando así, el potasio disponible para la secreción.

También se ha observado que la velocidad de flujo de líquido en los túbulos influye directamente en la excreción de potasio, que es mayor a velocidades más grandes.

Por último, podemos mencionar que los diuréticos afectan la excreción de potasio por varios mecanismos. Es probable que todos los diuréticos con acción calurética (diuréticos osmóticos, inhibidores de la anhidrasa carbónica, tiazidas),

incrementan el potasio urinario por aumento de flujo tubular. La inhibición de la reabsorción de líquido en el túbulo proximal contribuye a la caliuresis al reducir la reabsorción proximal de potasio, los inhibidores de la anhidrasa carbónica pueden tener un efecto directo sobre la secreción distal de potasio. (4, 74, 35).

## 2.5 TRANSPORTE DE BICARBONATO

El 90% del bicarbonato ( $\text{HCO}_3^-$ ) es reabsorbido casi en su totalidad en la parte final del túbulo contorneado proximal, el resto se recupera en túbulo distal y en el colector, lo que hace disminuir las concentraciones del  $\text{HCO}_3^-$  en la luz tubular, mientras que el  $\text{Cl}^-$  aumenta con relación al plasma.

La reabsorción es producida por la secreción del  $\text{H}^+$  del interior de las células a la luz tubular por un transporte activo contra un gradiente eléctrico y químico, siendo éste menor en el túbulo proximal que en el distal. Esto implica que túbulos excreten muchos iones  $\text{H}^+$  cuando la concentración intracelular es grande y el gradiente bajo, siendo la secreción renal del  $\text{H}^+$  del 90% en el túbulo proximal.

Los  $\text{H}^+$  secretados a la luz tubular, en el intercambio por iones sodio que difunden pasivamente, se unen al ion  $\text{HCO}_3^-$  para formar ácido carbónico ( $\text{H}_2\text{CO}_3$ ) que por medio de la anhidrasa carbónica presente en la cara luminal de la célula tubular se disocia en bióxido de carbono y agua ( $\text{CO}_2 + \text{H}_2\text{O}$ ), difundiendo el  $\text{CO}_2$  al interior de la célula. Aquí, en presencia de la enzima (anhidrasa carbónica), intracelular se transforma en  $\text{H}_2\text{CO}_3$ , el cual se disocia en  $\text{H}^+ + \text{HCO}_3^-$ , siendo estos iones de  $\text{H}^+$  y los procedentes de la descomposición del  $\text{H}_2\text{O}$  en  $\text{OH}^-$  y  $\text{H}^+$  los que son secretados a la luz tubular mediante la bomba transportadora existente en la membrana celular. (41,97,98).

El  $\text{HCO}_3^-$  que penetra al espacio intercapilar y posteriormente en el capilar tubular vuelve a la circulación sistémica manteniendo constante de esta forma

su concentración plasmática. (100)

Existen otros factores que modifican el transporte de  $\text{HCO}_3^-$  como son:  $\text{PCO}_2$  (presión de bióxido de carbono) en la sangre arterial, la actividad de la anhidrasa carbónica, el sodio y el volumen sanguíneo. (97, 100).

Un aumento de  $\text{PCO}_2$  en la sangre arterial se acompaña de un incremento equivalente de  $\text{PCO}_2$  en las células tubulares renales, incrementándose de esta manera la formación de  $\text{H}_2\text{CO}_3$  y como con secuencia se eleva la concentración intracelular de  $\text{H}^+$ , que se excreta en mayor proporción, provocando un aumento en la absorción de  $\text{HCO}_3^-$ . (97, 100).

## 2.6 GLUCOSA

La glucosa es filtrada libremente y se reabsorbe casi en su totalidad en el túbulo proximal.

El mecanismo de absorción de la glucosa y de los aminoácidos se efectúa por un contratransporte con el sodio en la cara luminal de la célula, la glucosa o los aminoácidos salen de la célula por la otra cara gracias a un transportador.

Parece existir un transportador específico para las diferentes hexosas, presentando la glucosa la más alta especificidad para este transportador. La L-glucosa no se reabsorbe, pero cuando se aplica a la cara antiluminal, aumenta la reabsorción de la D-glucosa, probablemente por cotransporte, puesto que la fracción del transporte de la glucosa parece depender de la reabsorción de sodio. (41, 74).

### 2.6.1 AMINOACIDOS

Los aminoácidos pasan al filtrado glomerular a la misma concentración que en el plasma, pero menos de 100 mg/24 hrs de aminoácidos libres son excretados en la orina. La mayor reabsorción se efectúa en el túbulo proximal. Una fracción de su reabsorción podría ser pasiva, secundaria a la reabsorción de sodio y agua, pero más bien parece ser que existen mecanismos de reabsorción activa.

Los aminoácidos parecen utilizar diferentes transportadores, aunque el transportador depende del sodio, provocando que la diferencia de potencial en el túbulo proximal se haga más negativa.

Una concentración aumentada de aminoácidos puede sobrepasar la capacidad de reabsorción en el túbulo proximal y provocar una aminoaciduria. (103, 74).

### 2.6.2 PROTEINAS

La membrana glomerular es semipermeable, lo cual permite el paso de sustancias en proporción con su tamaño y carga superficial. Las sustancias sin carga, no fijan a proteínas de peso molecular menor de 5000 Daltones, se filtran en la misma proporción que en el plasma, las sustancias más grandes se retrasan. La concentración de proteínas en el filtrado glomerular depende de su concentración en el plasma. (14).

Las proteínas se reabsorben extensamente en el túbulo proximal, cuando aumenta la filtración de una proteína, el túbulo proximal reabsorbe más hasta que se excede su capacidad y se produce proteinuria. (14, 41).

### 2.6.3 TRANSPORTE DE ACIDO URICO

El ácido úrico es un ácido débil, se filtra, reabsorbe y excreta. Su filtración se realiza en el glomérulo y se produce reabsorción en gran cantidad en el túbulo proximal, por una vía realmente inespecífica ligada a la reabsorción de  $H_2O$  y  $NaCl$ , si se aumenta esta reabsorción como en el caso de la disminución del volumen del filtrado o después del empleo de diuréticos se reabsorbe más urato en este segmento. También hay una secreción activa de ácido úrico en la parte final del túbulo proximal.

Cerca del 10% del ácido úrico filtrado se excreta en la orina. Algunos medicamentos inhiben la secreción de ácido úrico, otros inhiben la reabsorción y otros inhiben ambos mecanismos y el efecto que predomina depende de la concentración de los medicamentos. (103).

El control final de la secreción del ácido úrico se efectúa en el extremo de la nefrona, pero las modificaciones de la reabsorción tubular proximal del sodio y del agua modifican la excreción y la tasa plasmática de ácido úrico. (41, 103).

### 2.6.4 TRANSPORTE DE FOSFATO

Los fosfatos son filtrados a nivel glomerular, probablemente a la misma concentración que la del plasma, parece que hay una reabsorción estrechamente ligada a la del  $NaCl$  y a la del agua. Si la reabsorción tubular proximal del

fluido está inhibida, también lo está la absorción de fosfatos. Asimismo, existe una reabsorción distal de fosfatos, pero la mayor parte de los que se escapan a la absorción proximal es secretada por la orina. En caso de una sobrecarga de sodio, la excreción de sodio y fosfatos aumenta en la orina, como consecuencia de la disminución de la reabsorción tubular proximal. (41).

La hormona paratiroidea tiene un efecto directo sobre el proceso de transporte de fosfatos, ya que parece que la hormona inhibe la reabsorción tubular proximal de sodio, lo que provoca una disminución en la reabsorción de fosfatos.

La calcitonina parece tener un efecto análogo a la hormona paratiroidea, ya que inhibe la reabsorción tubular de sodio. (35, 67, 103).

#### 2.6.5 TRANSPORTE DE ACIDOS Y BASES DEBILES

Existen numerosas vías de excreción activa a lo largo de la nefrona: la primera está representada por un sistema de secreción poco específica que se aplica a los ácidos débiles. El segundo sistema de secreción también es inespecífico y afecta a las bases débil. Además, las bases y los ácidos débiles pueden ser secretados o reabsorbidos por una difusión no iónica que no es un transporte activo de los iones  $H^+$ . El mecanismo exacto del transporte activo de los ácidos orgánicos no se conoce, pero se cree que depende del contra-transporte del anión con el ión hidroxilo. La secreción neta puede transformarse en absorción en el mismo segmento tubular, lo cual se explica por que son posibles un gran número de etapas o sistemas de contratransporte.

Numerosos medicamentos son excretados en el lugar de la absorción o secreción de los ácidos y bases débiles. (41, 103).

#### 2.6.6 UREA

La urea, principal producto nitrogenado de desecho se excreta por el riñón. La concentración plasmática depende de la tasa de producción de urea que está habitualmente en función de los aportes protéicos y de los niveles de excreción de urea por la orina. La urea se filtra libremente en el glomérulo y es reabsorbida en el túbulo proximal después de la reabsorción de agua; pero su concentración aumenta tanto que al final del túbulo proximal, su concentración es aproximadamente de 1.5 y 2 veces mayor que la del plasma. Si la reabsorción de agua aumenta en el túbulo proximal, se reabsorbe más urea.

La hormona antidiurética juega un papel importante en la concentración de la urea, si no hay (ADH), hay poca sustracción de agua en el resto de la nefrona. La concentración de urea no va a aumentar y así, la mayor parte de la urea que alcanza el túbulo distal se excreta por la orina, no obstante, en presencia de (ADH) el agua se sustrae y el fluido vuelve a ser isotónico con el plasma.

La concentración de urea aumenta de forma importante puesto que poca urea se reabsorbe con relación al agua. Las membranas del túbulo distal y del canal colector cortical son tan impermeables a la urea que un aumento en la concentración de urea no produce un notable aumento de urea reabsorbido. Si el caudal urinario aumenta durante cierto tiempo, por ejemplo, mediante diuréticos

osmóticos, la urea plasmática desciende. Este aumento de la excreción de urea es debido al hecho de que la reabsorción neta disminuye porque a altas concentraciones no se crean importantes gradientes favorables a la reabsorción de urea, a la inversa, cuando la orina llega a ser concentrada y la concentración de urea aumenta, una fracción muy pequeña de la urea filtrada es excretada.

(67)

## 2.7 CONCENTRACION Y DILUCION DE LA ORINA

La capacidad para concentrar o diluir la orina es de crucial importancia para la conservación de la osmolaridad de los líquidos en los tejidos y la regulación de la excreción de agua en relación con la ingestión de soluto de agua. La dilución de la orina se realiza mediante la sustracción de NaCl del líquido tubular en una región donde la membrana es impermeable al agua; esto es, en la rama ascendente gruesa del asa de Henle, el túbulo distal y en el colector. En este proceso de dilución depende en gran medida de la presencia o ausencia de la hormona antidiurética (ADH), en ausencia de la ADH los túbulos colectores son prácticamente impermeables al agua, lo que provoca que la orina se diluya.

Cada uno de estos segmentos medulares tiene características diferentes de permeabilidad al agua, sales y mecanismos de transporte de solutos que permiten generar un intersticio medular hipertónico a través de un mecanismo de contracorriente. (63, 103).

El mecanismo de concentración está en relación con el asa de Henle. La proximidad entre la rama descendente y la ascendente del asa, permite el movimiento de sodio entre ellas; esto es, lo que se conoce con el nombre de sistema de contracorriente.

El movimiento se inicia en la rama ascendente donde se produce un transporte activo de sodio de la luz tubular hacia el intersticio medular, sin ser acompañado de agua. (4).

El resultado es un intersticio hiperosmótico y una orina hipotónica en la rama ascendente. Del intersticio, el sodio pasa a la rama delgada descendente, siguiendo el gradiente de concentración lo que da como resultado una alta concentración de sodio en la rama delgada. Esta hipertonicidad se acentúa a medida que la orina desciende hacia el extremo del asa, en esto consiste el mecanismo de contracorriente. (97, 103)

Es interesante tener en cuenta el efecto de la (ADH) en este mecanismo de concentración de la orina, ya que en ausencia de ella la orina se diluye, pero en presencia de ella, no sólo aumenta la reabsorción de agua a nivel del túbulo colector, sino que también permite el aumento de la concentración urinaria debido al aumento de permeabilidad a la urea. (4, 97).

## 2.8 EQUILIBRIO ACIDO BASE

Normalmente el pH sanguíneo se mantiene dentro de márgenes estrechos (7.35 - 7.45) por procesos de amortiguación química extracelulares e intracelulares conjuntamente con mecanismos de regulación respiratoria y renales. Estos límites tan estrechos son esenciales para las funciones metabólicas normales, incluyendo la actividad enzimática, la coagulación sanguínea y la actividad neuromuscular. (67, 96).

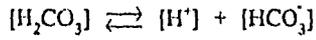
La mayor parte de los sistemas amortiguadores del organismo consisten en un ácido y una base débil, cuya función es impedir que haya cambios súbitos en el pH del líquido corporal, para lo cual transforman a los ácidos y las bases fuertes en débiles.

Cabe recordar que los ácidos fuertes se disocian en iones  $H^+$  con mayor facilidad que los ácidos débiles, por lo que disminuyen el pH en mayor grado que los ácidos débiles. En forma similar, las bases fuertes elevan más el pH que las bases débiles, ya que las primeras se disocian con mayor facilidad en iones  $OH^-$ . (96).

Convencionalmente, la acidez o alcalinidad de los líquidos biológicos se expresa como pH. Este término deriva de la concentración de los iones  $H^+$ . En la sangre, el pH proviene de la relación entre la concentración de iones  $H^+$  y del ácido carbónico. (96, 67).

Lo anterior, se comprende mejor, si se estudia la constante de disociación,

para este ácido débil:



$$K = \frac{[\text{H}^+] [\text{HCO}_3^-]}{[\text{H}_2\text{CO}_3]}$$

$$\therefore [\text{H}^+] = K \frac{[\text{H}_2\text{CO}_3]}{[\text{HCO}_3^-]}$$

$$\therefore \log [\text{H}^+] = \log K + \log \frac{[\text{H}_2\text{CO}_3]}{[\text{HCO}_3^-]}$$

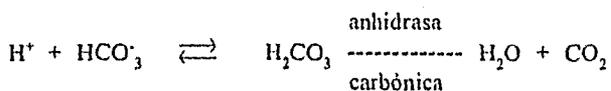
Dado que  $\text{pH} = -\log_{10} [\text{H}^+]$  (ecuación de Henderson Hasselbalch)

$$\text{pH} = \text{pKa} + \log_{10} \frac{[\text{HCO}_3^-]}{[\text{H}_2\text{CO}_3]}$$

$$= 6.1 + \log \frac{[\text{HCO}_3^-]}{[\text{H}_2\text{CO}_3]}$$

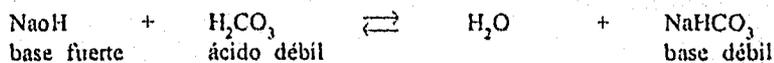
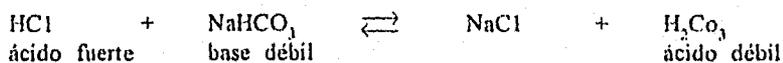
La concentración de ácido carbónico, ( $\text{H}_2\text{CO}_3$ ), depende de la cantidad de bióxido de carbono presente en la sangre.

La reacción es catalizada por la enzima anhidrasa carbónica.



### 2.8.1 SISTEMA AMORTIGUADOR BICARBONATO ACIDO CARBONICO

Este sistema amortigua aproximadamente 40% de una carga de ácido y su efecto se lleva a cabo en la sangre y el líquido intersticial. Las siguientes ecuaciones ejemplifican este sistema.

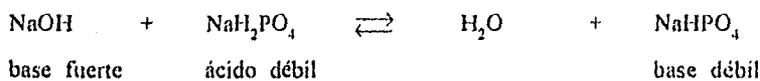


Los fenómenos corporales tienden a acidificar la sangre, y no a hacerla alcalina, por lo que el organismo necesita más sales de bicarbonato que ácido carbónico. (37, 65).

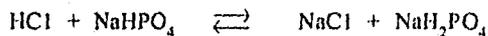
## 2.8.2 SISTEMA AMORTIGUADOR DE FOSFATOS

El sistema amortiguador de fosfatos actúa, en lo esencial, en la misma forma que la del bicarbonato.

Sus dos componentes son el fosfato sódico dihidrogenado ( $\text{NaH}_2\text{PO}_4$ ) y el fosfato sódico monohidrogenado ( $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ ). El ionfosfato dihidrogenado actúa como ácido débil, y amortigua las bases fuertes:



El ion fosfato monohidrogenado representa una base débil, y amortigua a los ácidos fuertes.

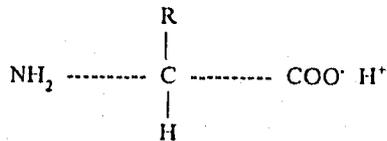


El sistema amortiguador de fosfato es un regulador importante del pH de los eritrocitos y los líquidos de los túbulos renales. El  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$  se forma cuando los iones  $\text{H}^+$  en exceso de los túbulos renales se combinan con el  $\text{NaHPO}_4$ , reacción en la que el ion sodio liberado, pasa a formar parte del bicarbonato de sodio ( $\text{NaHCO}_3$ ), que se desplaza hacia el torrente sanguíneo. El ion  $\text{H}^+$  que sustituye al sodio como parte del  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$ , se excreta en la orina. Esta reacción es uno de los mecanismos de regulación del pH por parte de los riñones y consiste en acidificación de la orina. (67)

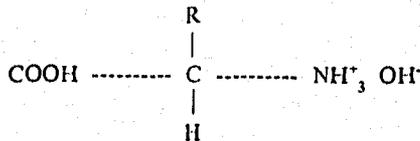
### 2.8.3 SISTEMA AMORTIGUADOR DE PROTEINAS

El sistema amortiguador de proteínas es el más abundante en las células de los tejidos y el plasma. Las proteínas están compuestas de aminoácidos, compuestos orgánicos que incluyen por lo menos un grupo carboxilo (COOH) y un grupo amino (NH<sub>2</sub>).

El grupo carboxilo actúa como ácido, y se puede disociar en la siguiente forma:



Una vez que tiene lugar tal disociación, el ion hidrógeno podrá reaccionar con el exceso de OH<sup>-</sup> presentes en la solución y formar agua. Por otra parte, el grupo amino presenta la tendencia a actuar como base.



El OH<sup>-</sup> del grupo amino puede disociarse, reaccionar con el exceso de iones H<sup>+</sup> y formar agua. En estos términos, las proteínas actúan como amortiguadores ácidos y básicos. (67, 37).

#### 2.8.4 SISTEMA AMORTIGUADOR HEMOGLOBINA-OXIHEMOGLOBINA

El sistema amortiguador de hemoglobina-oxihemo-globina, es eficaz para amortiguar el ácido carbónico presente en la sangre. Este compuesto se forma como resultado de la combinación del  $\text{CO}_2$  con agua, la cual tiene lugar cuando la sangre se desplaza desde el extremo arterial de los capilares hacia su extremo venoso y las células de los tejidos ceden  $\text{CO}_2$  a los eritrocitos. (37).

En forma simultánea, la oxihemoglobina cede su oxígeno a la célula, se transforma en hemoglobina reducida y adquiere carga negativa. El anión hemoglobina atrae el  $\text{H}^+$  que forma parte del ácido carbónico, y se transforma en un ácido incluso más débil que el propio ácido carbónico. La reacción que tiene lugar como parte del sistema de hemoglobina-oxihemoglobina, nos indica por qué los eritrocitos tienden a ceder su oxígeno cuando la  $\text{PCO}_2$  es elevada. (37, 67, 14).

### 2.8.5 SISTEMA AMORTIGUADOR AMONIO AMONIACO

Un sistema amortiguador muy potente del líquido tubular, es el formado por el amoniaco ( $\text{NH}_3$ ) y el ion amonio ( $\text{NH}_4$ ).

Las células epiteliales de todos los túbulos, aparte de los correspondientes al segmento delgado del asa de Henle, sintetizan continuamente amoniaco, y éste difunde hacia los túbulos. El amoniaco reacciona con los iones de hidrógeno para formar iones de amonio que son eliminados en la orina en combinación con cloruros y otros aniones tubulares. (40, 67).

Este mecanismo del ion amonio para transportar un exceso de iones hidrógeno en los túbulos, tiene particular importancia, ya que cada vez que una molécula de amoniaco se combina con un ion hidrógeno para formar el ion amonio, la concentración de amoniaco en el líquido tubular disminuye, lo cual hace que difunda más amoniaco desde las células epiteliales hacia el líquido tubular. (40, 67, 96).

## C A P I T U L O 3

### PATOLOGIAS ASOCIADAS A INSUFICIENCIA RENAL

#### 3.1 INSUFICIENCIA RENAL

La insuficiencia renal, es un estado patológico que aparece cuando el riñón es incapaz de eliminar ciertas sustancias tóxicas que se forman en el organismo y como consecuencia, se produce un almacenamiento en la sangre de los productos de excreción renal. (6).

#### 3.2 TRANSTORNOS ACIDO BASE

Todos los sistemas del cuerpo se encuentran en equilibrio con rapidez. La ganancia o pérdida de iones  $H^+$  alteran, no sólo la relación  $H_2CO_3/HCO_3^-$ , sino que los cambios del pH que acompañan a esta ganancia o pérdida dependen del estado de todos los sistemas amortiguadores dentro del cuerpo. Como la ganancia o pérdida de iones  $H^+$  u  $OH^-$  se refleja con rapidez en cambios correspondientes al sistema  $CO_2/HCO_3^-$ , es más adecuado caracterizar como pérdida o ganancias de  $CO_2$  ó  $HCO_3^-$ . (40, 67, 96).

Con finalidades clínicas, todos los cambios primarios o simples de la concentración de iones  $H^+$  en los líquidos corporales, se pueden colocar en una u otra de dos categorías: respiratorias o metabólicas. (97, 40, 103).

La ecuación de Henderson-Hasselbach; identifica las variables que pueden

medirse y emplearse para diagnosticar el trastorno ácido básico. Las variables que se emplean para caracterizar el trastorno del pH, son: medición directa del pH, de la concentración de bicarbonato, de la concentración de ácido carbónico y de la concentración de sodio, cloruro y potasio. (67, 74, 40, 37).

### 3.2.1 ACIDOSIS METABOLICA

La acidosis metabólica se caracteriza por la reducción del bicarbonato plasmático y por un grado variable de acidemia. El pH sanguíneo final depende de la naturaleza y gravedad del proceso iniciador, la rapidez de su instalación y la duración de la acidosis.

El aumento de la producción de iones hidrógeno desplaza la reacción de equilibrio hacia  $H_2CO_3$ , con descenso resultante en  $(HCO_3^-)$ . La disminución concomitante del pH estimula la ventilación y produce descenso de  $(H_2CO_3)$  ó  $(PCO_2)$ . Estos cambios originan los datos característicos de la acidosis metabólica.

La compensación respiratoria, el aumento de la respuesta ventilatoria que disminuye la  $PCO_2$  modera la disminución del pH y puede cuando sólo hay acidosis benigna, establecer el pH a cifras normales. En estas circunstancias, sólo se observará disminución de  $(HCO_3^-)$  y de  $PCO_2$ , conforme la acidosis aumenta de gravedad no puede lograrse compensación completa y el pH disminuye progresivamente según aumente la gravedad de la acidosis. (14, 40, 65).

La acidosis metabólica puede resultar de fuentes endógenas o exógenas de iones hidrógeno, las alteraciones metabólicas de la índole de producción excesiva de cetoácidos en la diabetes sacarina, exceso de producción de ácido láctico en presencia de anoxia continuada de los tejidos periféricos y producción excesiva de ácido láctico provocada por fármacos producen aumento en exceso de iones de hidrógeno a los líquidos corporales.

La disminución de la excreción de iones hidrógeno provoca acidosis metabólica endógena, ésta resulta de insuficiencia en la excreción de ácido por los riñones. El índice de producción de iones hidrógenos a partir de alimentos ingeridos nunca excede de la capacidad de los riñones normales para secretar iones  $H^+$ , sin embargo, en la insuficiencia renal aguda o crónica está limitada a la secreción de iones  $H^+$  que se retienen en vez de excretarse, esta retención diaria origina también acidosis (40, 96, 63).

La pérdida de bicarbonato por la orina u otros líquidos corporales, también produce acidosis. En estado normal, los riñones reabsorben todo el  $HCO_3$  filtrado, pero en pacientes con insuficiencia renal, este fenómeno presenta deficiencia, de modo que se excretan grandes cantidades de bicarbonato, cuando esta pérdida de bicarbonato es provocada por la retención de cloruro que da lugar a la acidosis hiperclorémica. (37, 40, 63).

Existe también otro tipo de trastornos que son el resultado de transporte defectuoso de iones  $H^+$  en uno o más segmentos del túbulo, que se caracteriza por el pH urinario elevado, hipercloremia y el ritmo de filtración glomerular normal y sólo moderadamente reducido, este tipo de trastorno se le conoce

como acidosis tubular renal. (40).

La pérdida gastrointestinal de bicarbonato también origina acidosis metabólica y se presenta en estados patológicos del intestino delgado y grueso. La diarrea con grave pérdida de bicarbonato es un ejemplo claro de este tipo de acidosis. (40, 96).

También los fármacos pueden producir acidosis metabólica, la acetazolamida es un ejemplo claro, este fármaco causa acidosis al inhibir la reabsorción de bicarbonato en los riñones. Otras sustancias como el cloruro de amonio, salicilatos y metanol cuando se ingieren en exceso pueden causar acidosis metabólica. (37, 103).

En la acidosis, la intensa secreción de hidrógeno aumenta hasta un nivel mucho mayor que la intensidad de filtración del ion bicarbonato en los túbulos, en consecuencia, se elimina un exceso de iones hidrógeno hacia los túbulos que no disponen de bicarbonato con el cual reaccionar, este exceso de iones hidrógeno se combina con los amortiguadores del líquido tubular y son eliminados en la orina. (37, 97, 40, 103).

Cada vez que un ion hidrógeno es secretado hacia los túbulos, se producen dos efectos: primero se forma un ion bicarbonato en la célula epitelial tubular, en segundo lugar se absorbe un ion sodio, este ion y el ion bicarbonato difunden juntos desde la célula hasta el líquido peritubular. Por consiguiente, el efecto neto de secretar un exceso de iones hidrógeno al interior de los túbulos estriba en aumentar la cantidad de bicarbonato de sodio en el líquido extracelular, provocando

así el aumento de pH, por lo tanto, corrige así la acidosis. (49).

La elevada concentración de iones hidrógeno por acidos metabólica, origina aumento de la ventilación pulmonar, que a su vez produce rápida eliminación del  $\text{CO}_2$ , de los líquidos corporales y disminuye la concentración de iones hidrógeno hacia lo normal.

Así pues, el efecto respiratorio ayuda a compensar la acidosis metabólica. (37, 63).

### 3.2.2 ALCALOSIS METABOLICA

La alcalosis metabólica se caracteriza por la disminución de la concentración de iones hidrógeno (aumento de pH), aumento de la concentración de bicarbonato y concentración de  $\text{H}_2\text{CO}_3$  normal o poco aumentada. (40, 37, 65).

Este tipo de desequilibrio puede ser originado por varias causas como: pérdida del contenido gástrico por vómitos, administración de diuréticos que causan pérdidas prácticamente iguales de  $\text{Na}^+$  y  $\text{Cl}^-$  (tiacidas, furesamida, ácido etacrínico), hipertiroidismo, hipercorticismo y administración de antiácidos. (65, 40).

La reacción inmediata de amortiguadores que actúa para disminuir el cambio de pH en la alcalosis, dependen de la liberación de iones hidrógeno y de amortiguadores intra y extracelulares. Este desplazamiento del hidrógeno hacia el exterior

desde las reservas intracelulares se acompaña de movimiento de sodio y potasio hacia el interior. (96, 65).

Por su parte, el sistema respiratorio para compensar este desequilibrio, provoca un aumento de pH, lo que deprime el centro respiratorio y causa con ello una retención de  $\text{CO}_2$ , lo cual a su vez causa aumento de  $\text{H}_2\text{CO}_3$ .

En la alcalosis, la proporción de iones bicarbonato a moléculas de  $\text{CO}_2$ , aumenta cuando el pH se eleva por encima de 7.4, el efecto de esto es aumentar la proporción de iones bicarbonatofiltrados hacia los túbulos que los iones  $\text{H}^+$  secretados. (98).

Este aumento tiene lugar porque la elevada concentración extracelular de ion hidrógeno también aumenta su concentración en el filtrado glomerular y la baja concentración de  $\text{CO}_2$  disminuye la secreción de iones  $\text{H}^+$ , por tanto, ya no persiste el equilibrio que normalmente hay entre iones  $\text{H}^+$ , por tanto, ya no persiste el equilibrio que normalmente hay entre iones  $\text{H}^+$  y iones  $\text{HCO}_3^-$ , por lo que ahora entran en los túbulos mayor cantidad de  $\text{HCO}_3^-$  que iones  $\text{H}^+$ . (98, 37, 74).

Como no pueden reabsorberse los iones  $\text{HCO}_3^-$  sin reaccionar primero con iones  $\text{H}^+$ , todo el exceso de  $\text{HCO}_3^-$  pasa a la orina y se lleva consigo iones sodio, así pierde bicarbonato del líquido extracelular. La pérdida de  $\text{HCO}_3^-$  de sodio por el líquido extracelular disminuye la porción del  $\text{HCO}_3^-$  del sistema amortiguador de bicarbonato; según la ecuación de Henderson-Hasselbach, esto desplaza el pH de los líquidos corporales en dirección ácida. En esta forma

corrige el riñón la alcalosis. (40, 97, 98).

En la tabla 1, podemos observar algunas alteraciones del equilibrio ácido-base.

T A B L A 1

ALTERACIONES EN EL EQUILIBRIO ACIDO BASICO

Alteraciones primarias	Cambio agudo primario	Cambio en las proporciones de $\text{HCO}_3^-$	pH arterial	$\text{K}^+$ sérico
<b>RESPIRATORIAS</b>				
Acidosis	retención de $\text{CO}_2$	$\uparrow \text{PCO}_2/\text{HCO}_3^- \uparrow$	$\downarrow$	$\uparrow$
Alcalosis	diferencia de $\text{CO}_2$	$\downarrow \text{PCO}_2/\text{HCO}_3^- \downarrow$	$\uparrow$	$\downarrow$
<hr/>				
<b>METABOLICAS</b>				
Acidosis	disminución del $\text{HCO}_3^-$	$\downarrow \text{PCO}_2/\text{HCO}_3^- \downarrow$	$\downarrow$	$\uparrow \downarrow$
Alcalosis	retención de $\text{HCO}_3^-$	$\uparrow \text{PCO}_2/\text{HCO}_3^- \uparrow$	$\uparrow$	$\downarrow$

### 3.3 GLOMERULONEFRITIS

Bajo este nombre se agrupan diversas enfermedades en las que el síndrome nefrítico suele presentarse en forma aguda. La glomerulonefritis es el resultado de un proceso de inflamación producido por mecanismos inmunológicos. (36, 95)

La glomerulonefritis (GN), se caracteriza por un inicio súbito de hematuria y proteinuria, a menudo asociadas con edemas, hipertensión, oliguria y disminución en el IFG. La disminución de la filtración glomerular trae consigo un aumento de la reabsorción tubular del sodio y consecuentemente reducción de la fracción excretada del sodio filtrado y expansión del volumen plasmático, la consecuencia de este proceso es el desarrollo de hipertensión arterial. (81).

El mecanismo de la lesión glomerular es multifactorial, pero básicamente, se trata de una reacción inmunológica tras la exposición del organismo a un antígeno produciendo un anticuerpo como respuesta. El complejo antígeno-anticuerpo circulante se deposita en la membrana basal del glomérulo causando una lesión, a pesar de la desaparición del antígeno, la lesión glomerular puede persistir dando lugar a una GN progresiva. (81, 95).

Los hallazgos clínicos en el laboratorio de la lesión glomerular son: hematuria, proteinuria y la aparición de cilindros pigmentados o hemáticos en la orina. En base a la cantidad de proteinuria, tipos de cilindros y hematuria, la (GN) puede clasificarse en tres tipos:

- 1.- Tipo nefrítico. En este tipo de GN se presentan cilindros hemáticos o pigmentados y proteinuria menor de 3.5 gr/24 hrs.
- 2.- Tipo nefrítico/nefrótico. Aquí se presentan los mismos tipos de cilindros que en uno, pero la cantidad de proteinuria es superior a los 3.5 gr/24 hrs.
- 3.- Tipo nefrótico. En este tipo de GN lo que más se observa es una proteinuria excesiva. (1,95).

La GN estreptocócica es la forma más clásica de la GN aguda. La presentación clínica varía desde la forma más asintomática con discreta proteinuria, hasta la forma más aguda con proteinuria, hematuria e insuficiencia renal aguda. La GN es más frecuente en la niñez y adolescencia, pero puede observarse en cualquier edad. (36).

La GN puede llegar a ser crónica, ya que puede transcurrir asintomática durante años, diagnosticándose por un hallazgo accidental de proteinuria, o puede manifestarse por un cuadro clínico en el que destacan: edema, hipertensión arterial e insuficiencia renal aguda. (36, 81).

### 3.4 SINDROME NEFROTICO

El síndrome nefrótico se caracteriza por proteinuria, hipoalbuminemia y edema, este síndrome se presenta en una amplia gama de enfermedades renales primarias y en muchas enfermedades sistémicas. (1).

Uno de los rasgos más característicos del síndrome nefrótico es una proteinuria de tanta magnitud como para provocar hipoalbuminemia, la cantidad de proteínas excretadas en orina, suele ser superior a los 3 gr/24 hrs, por lo que la concentración sérica de albúmina está disminuida habitualmente por debajo de los 2.5 gr/dl. (36, 41, 73, 91).

Se considera como un hecho cierto que la proteinuria del síndrome nefrótico, se debe a una alteración glomerular y no a una disminución de la reabsorción tubular de las proteínas filtradas del plasma. La albúmina es el principal componente de las proteínas urinarias en pacientes con síndrome nefrótico, pero en algunos casos también se excretan proteínas de mayor peso molecular.

El aumento de la permeabilidad glomerular se puede ver afectado por los factores fisicoquímicos que regulan las características de esta permeabilidad glomerular como son: tamaño, forma y carga de la partícula, pues se ha observado que las moléculas cargadas negativamente se filtran mucho menos que otras de igual tamaño, pero de carga positiva. (73, 81, 91).

El desarrollo del edema está relacionado en apariencia con el aumento de la permeabilidad glomerular de la albúmina. La pérdida prolongada de la albúmina

sérica disminuye la presión osmótica de la sangre y es la causa de un aumento de la corriente de agua desde la sangre a los espacios tisulares. De esta forma, disminuye el volumen de sangre circulante, esta disminución es la causa de la secreción de la aldosterona, la cual a su vez produce retención de agua y de sodio que conduce al edema. (37, 51).

En pacientes con síndrome nefrótico se presentan a menudo alteraciones de nivel plasmático de lípidos que pueden causar arteroesclerosis y una rápida progresión hacia el deterioro de la función renal. La lipidemia en el síndrome nefrótico (SN) es caracterizada por una alta concentración en el plasma de lipoproteínas de baja densidad, también el colesterol aumenta lentamente a medida que la albúmina desciende, pero si la hipoalbuminemia es severa, el colesterol aumenta en forma brusca, en estos pacientes también se puede observar hipocalcemia e hipermagnesemia. (18, 23, 37, 73).

### 3.5 INSUFICIENCIA RENAL AGUDA

La insuficiencia renal aguda (IRA) es un síndrome que se caracteriza por el descenso rápido y progresivo de la función renal que se acompaña por la disminución del índice de filtración glomerular (IFG), con valores inferiores de 1-2 ml/min y alteraciones de la función tubular. La consecuencia de este descenso en el IFG es la elevación del nitrógeno uréico, de la creatinina, así como alteraciones en la concentración del fósforo, calcio y ácido úrico. La lesión tubular crea cambios en la composición de los líquidos corporales, fundamentalmente por su incapacidad para mantener el balance de sodio y agua. (81, 98).

La IRA puede presentarse con oliguria (volumen de orina inferior a 400 ml/24 hrs), pero en ocasiones el volumen de orina se puede ver incrementado, por lo que también se puede llamar IRA no oligúrica. (76, 99).

La IRA es habitualmente reversible y no deja secuelas, pero algunos factores etiológicos pueden provocar lesiones persistentes de las estructuras anatómicas renales como ocurre en el caso de la nefrotoxicidad o de coagulación intravascular. La presentación del cuadro, el curso clínico, su bioquímica y el pronóstico puede variar según la etiología, de las posibles enfermedades asociadas y de los posibles tratamientos efectuados previamente (41, 65, 98).

Se han clasificado a las causas de la IRA en tres grupos principales:

1.- Prerenales: son muy diversas las causas y tienen en común el hecho de

presentar una disminución del riesgo sanguíneo, como son: el choque hipovolémico, anafiláctico, séptico, traumático o quirúrgico, además de otras como: hemorragias, vómitos, diarreas, quemaduras, infarto al miocardio, insuficiencia cardíaca, entre otras.

De un 50 a 70% del deterioro renal en todos los casos es producida por este primer grupo. (1, 36, 98).

2.- Post renales: Son las secundarias a la obstrucción de las vías excretoras como son: tumores, cálculos, trombos, nódulos linfáticos. Estas causas pueden provocar un deterioro renal sólo en un 10% de los casos.

3.- Renales: Esta causa implica un daño parenquimatoso y sólo de un 20 a 30% de estas causas pueden provocar deterioro renal, las causas más comunes para este caso son: Nefritis intersticial aguda, vasculitis, eclampsia, hipercalcemia, aborto séptico, entre otras. (1)

Las alteraciones fisiopatológicas que tienen lugar durante el desarrollo de la IRA son variables según la etiología de la misma.

Una de las alteraciones, es la disminución del riesgo sanguíneo renal que disminuye el consumo de oxígeno y la actividad de la ATPasa de  $\text{Na}^+$  y  $\text{K}^+$  a nivel del túbulo contorneado proximal, lo que origina inhibición del mecanismo activo de la reabsorción de sodio lo que va a dar lugar a una alteración en la composición de los líquidos corporales y electrolitos. (76, 81).

### 3.6 DIABETES MELLITUS

Aproximadamente 40% de los pacientes que padecen diabetes desarrollan alguna nefropatía y representa una causa muy común de insuficiencia renal en adultos. El diabético con nefropatía presenta una larga y silenciosa fase de anormalidades que pasa inadvertida durante mucho tiempo, pero que finalmente desarrolla insuficiencia renal después de aproximadamente 17 años de diabetes, clínicamente se manifiesta por proteinuria, hipertensión y una disminución en el IFG. (32).

La función renal puede permanecer normal durante años y posteriormente, empieza a disminuir produciendo un aumento constante de urea en sangre y una pérdida progresiva de las proteínas que dan lugar a una hipoalbuminemia con la consiguiente aparición de edemas y anemia. La mayoría de los pacientes presentan complicaciones asociadas como son: la enfermedad coronaria, enfermedad vascular periférica, neuropatía y retinopatía, esta última se presenta en casi todos los pacientes con nefropatía y muchos de ellos están ciegos. (20, 31, 30).

### 3.7 INSUFICIENCIA RENAL CRONICA

La insuficiencia renal crónica (IRC) es la pérdida progresiva, usualmente lenta e irreversible del funcionamiento renal global causada por el deterioro continuo del parénquima renal. El resultado de esta pérdida es la incapacidad para mantener la homeostasia orgánica, falla a la que se deben las múltiples manifestaciones clínicas que caracterizan el síndrome que recibe el nombre de uremia. (81).

En la IRC hay una reducción importante y permanente de la filtración glomerular, esta reducción glomerular en el riñón, se puede producir por tres mecanismos principales:

- 1.- Una disminución del número de nefronas funcionales.
- 2.- Una reducción importante en la filtración glomerular de cada nefrona sin que se reduzca el número de éstas.
- 3.- Una combinación de ambos mecanismos. (76, 81, 99).

El cuadro de anormalidades clínicas en la IRC es muy amplio y éstas se van presentando a medida que las pérdidas de la función renal se acentúan. Cuando la capacidad funcional del riñón sólo se ha perdido en un 30 a 50%, el paciente no presenta síntomas, ya que el riñón tiene gran reserva funcional; esto indica que no habrá elevación de las sustancias nitrogenadas como la creatinina, la urea y el ácido úrico. Pero cuando la insuficiencia va en aumento, la pérdida

funcional del riñón llega a un 55% hasta 80% hay una elevación de los productos azoados, anemia, hipertensión e incapacidad para concentrar la orina. (1, 95).

Los principales síntomas de la IRC se inician en forma lenta y progresiva, encontrándose como primeros síntomas: la pigmentación urémica de la piel, malestar general, pérdida de peso, fatiga, anorexia, vómito, anemia que puede ser normocítica y normocrómica, trastornos de la coagulación (plaquetopenia), que se manifiesta por petequias y hematomas, infección en vías urinarias y trastornos en el metabolismo del calcio y fósforo, caracterizado por osteodistrofia renal. (63, 81).

Un sinnúmero de enfermedades pueden causar IRC, pero como primera causa tenemos a la glomerulonefritis (GN), en segundo lugar, tenemos una gran variedad de enfermedades como son: pielonefritis, nefritis, riñón poliquístico, nefropatía diabética, insuficiencia cardíaca congestiva y algunas otras, (76) como se puede observar en la tabla 2.

TABLA 2

PATOLOGIAS ASOCIADAS A LA INSUFICIENCIA RENAL

COMUNES	MENOS COMUNES	RARAS
Glomerulonefritis	Riñón poliquístico	Mieloma múltiple
Nefritis intersticial	Lupus eritematoso sistémico	Gota
Hipertensión		Tuberculosis
Diabetes mellitus	Drepanocitosis	Insuficiencia renal aguda sin resolución
Síndrome nefrótico		Transtornos vasculares y del colágeno
Uropatía obstructiva		
Nefropatía Diabética		

(41)

## C A P I T U L O 4

### METODOS DE ESTUDIOS EN LA INSUFICIENCIA RENAL

Para la precisa evaluación de la función renal, son de gran utilidad las pruebas clínicas, éstas forman parte de la valoración usual de todos los pacientes, ya que ofrecen una estimación del índice de filtración y de la función tubular, para ello, es necesaria la colaboración de Químicos, Fisiólogos y Farmacólogos para la interpretación de los datos clínicos y experimentales. (41, 60, 91).

Las técnicas de aclaramiento permiten la evaluación de la filtración glomerular, el flujo plasmático renal, la velocidad de excreción, reabsorción, secreción y metabolismo de algunas sustancias endógenas y exógenas. (60). El método más ampliamente usado para estos casos es el basado en el aclaramiento o depuración de sustancias que son completamente filtradas o excretadas por el riñón, desafortunadamente no todas las sustancias son endógenas, por lo que para su evaluación, es necesaria la administración de compuestos para la determinación del índice de filtración y el flujo plasmático (IFG), (FPR) respectivamente. (41).

Para la velocidad de filtración glomerular se utiliza una sustancia como la inulina, que es escretada completamente por filtración glomerular sin ninguna reabsorción tubular. Para el flujo plasmático renal (FPR) se determina con una sustancia como el Diodrast o p-aminohipúrico (PAH), que se depura completamente o casi completamente del plasma sanguíneo durante una sola pasada por el riñón. (64).

Existen además otras sustancias de uso más común para la determinación de la función renal como son: la creatinina y la urea (64). El marcador ideal para el IFG debe ser metabólicamente inerte, no tóxico y no debe alterar la función renal, pero además debe ser libremente filtrable, no debe unirse a proteínas y no debe ser reabsorbida ni secretada por los túbulos renales. La inulina ha sido considerada como el clásico marcador de la filtración glomerular (70, 72, 78), pero como la inulina no está en concentración endógena en el organismo, tiene que ser infundida de forma constante para mantener la concentración plasmática constante. (93).

El método más aceptado para la determinación de inulina en plasma y orina, es el basado en la reacción de Anthrone, se han propuesto métodos enzimáticos utilizando inulina y sorbitol deshidrogenasa para medir la inulina, el uso de métodos automatizados evita el uso de agentes tóxicos y minimiza la interferencia de la glucosa, (93). Se han desarrollado otros métodos para determinar la inulina, como es el de cromatografía líquida de alta presión (HPLC), que ha sido propuesto para eliminar la necesidad de utilizar compuestos marcados, pero este método se utiliza básicamente como método de referencia. (26).

No existen métodos sencillos para realizar la determinación cuantitativa del flujo plasmático renal (FPR) que sea útil para evaluaciones clínicas de rutina. El FPR se calcula usando el método de depuración de PAH o Diodrast, sin embargo, estos métodos requieren infusiones intravenosas constantes y recolecciones de orina bien cronometradas. Los métodos más usados son el de HPLC y el de Varley. (58, 91).

El aclaramiento o depuración de la inulina y del PAH son métodos considerados confiables para estimar el IFG, sin embargo, su aclaramiento requiere de una constante concentración en el plasma, por lo que se han implementado técnicas como son la de infusión intravenosa constante y la de inyección única, el IFG se calcula sólo en la sangre, en la presunción de que la concentración sanguínea es proporcional a la depuración renal de la sustancia, el método de infusión constante se basa en que la velocidad de infusión es igual a la velocidad de excreción urinaria, sin embargo, para cerciorarse de que no hay variación plasmática, se requiere una infusión intravenosa de unas 3 horas aproximadamente. (31, 58, 83).

En la práctica clínica la determinación de creatinina en suero y en orina han sido empleadas para estimar el IFG, aunque tiene el inconveniente de no ser considerada como el verdadero medidor del IFG, ya que sobreestima el IFG de 20 a 30% más con relación a la inulina en pacientes con función renal normal. (3, 17, 19, 26). Además de la creatinina se pueden valorar algunas otras sustancias que son más útiles para seguir la valoración renal. Tabla 3.

Muchos métodos han sido presentados para la determinación de la creatinina en muestras biológicas, el procedimiento más ampliamente usado es el basado en la reacción de Jaffé, pero muchos compuestos biológicos y farmacológicos interfieren en la reacción. (28, 48, 57, 83, 86).

T A B L A 3

INVESTIGACIONES MINIMAS RECOMENDADAS  
EN PACIENTES CON DAÑO RENAL

	MENSUAL	BIMESTRAL	TRIMESTRAL
Hemoglobina	X		
Hematócrito	X		
Ferritina			X
Transferrina			X
BUN	X		
Creatinina	X		
Acido Urico	X		
Na <sup>+</sup> , K <sup>+</sup> , Cl <sup>-</sup>	X		
Ca, Po <sub>4</sub>	X		
Fosf.Alca.	X		
GOT/GTP		X	
Colesterol	X		
Triglicéridos		X	
HCO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	X		

(13)

Varias modificaciones a la reacción de Jaffé han sido propuestas, éstas minimizan o eliminan la interferencia de compuestos pseudocromógenos. (2, 94). La introducción de métodos completamente enzimáticos es una de esas variaciones, estos métodos utilizan enzimas que tienen que ser completamente puras. Existen dos métodos que son los que más aceptación han tenido, la creatinina amidohidrolasa también denominada "creatinasa" que se emplea para convertir la creatinina en creatina, el segundo método es el basado en la reacción de la creatinina imidohidrolasa, esta enzima convierte la creatinina a N-metil-hidantoina y amoníaco, (48, 72, 94).

Recientemente, procedimientos más específicos para la creatinina han sido descritos, incluyendo métodos de cromatografía (HPLC), que se usa para separar creatinina de pseudocromógenos que desarrollan color en la reacción de Jaffé, el método de HPLC utiliza una fase estacionaria de intercambio catiónico, como fase móvil o una columna en fase inversa, la determinación cuantitativa se ha realizado con una reacción de Jaffé. (72, 87).

Para estimar la función renal, también se utiliza el (NNP) nitrógeno no protéico que corresponde a la urea, pero en vista de que es fácil determinar la concentración de creatinina plasmática, no es apropiado valerse del NNP, porque mientras que la creatinina sólo varía en relación a la función renal y la masa muscular, la urea es el principal producto terminal del metabolismo del nitrógeno y su concentración varía de acuerdo a las alteraciones de la carga de nitrógeno que depende del ingreso de proteínas, del catabolismo y del flujo urinario, (91). Los métodos más comunmente desarrollados para la urea, incluyen: DAM y Ureasa. (29).

La búsqueda de nuevos métodos más simples, pero fiables continúa y se han introducido nuevos procedimientos. La administración de compuestos marcados emisores de radiación para la determinación del IFG tras la inyección subcutánea, evita la necesidad de una infusión intravenosa constante. La mayoría de los estudios con radioisótopos, se realizan con Yodotalamato sódico  $I^{125}$ , ya que se ha observado que existe similitud entre el manejo renal de inulina y del  $I^{125}$  (85, 91). Además del  $I^{125}$ , existen otras sustancias como el (Cr) EDTA,  $I^{131}$  que se han utilizado para valorar la función renal. (15).

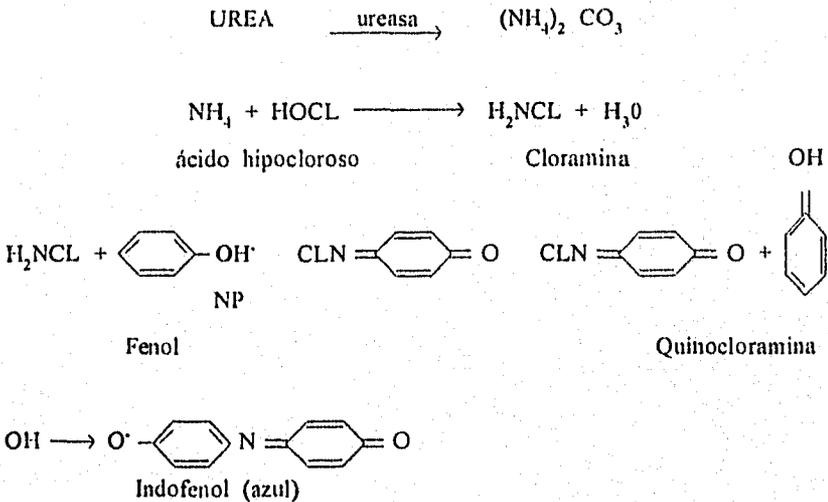
## M E T O D O S

### 4.1 UREA

Tradicionalmente, la urea ha sido determinada cuantitativamente en forma directa por análisis químico o en forma indirecta por conversión del amoniaco y la determinación posterior de este último. (72).

#### 4.1.1 METODO DE BERTHELOT

El amoniaco se mide por la clásica reacción de Berthelot, haciéndolo reaccionar con fenol e hipoclorito alcalino para formar cloramina de p-quinona.



La imina de p-quinona reacciona con otra molécula de fenol para formar indofenol, que en solución alcalina se disocia dando el colorante azul indofenol. (58,85).

### TECNICA

- Soln 1. Ureasa
- Soln 2. Patrón de urea 40 mg/dl
- Soln 3. Reactivo de fenol
- Soln 4. Hipoclorito de Sodio.

Pipetear en tubos de ensayo	Problema	Patrón	Blanco
Suspensión de ureasa (1)	0.10 ml	0.10 ml	0.10 ml.
Solución patrón (2)	-----	0.010 ml	-----
Suero u orina diluida (1+99)(1:100)	0.010 ml	-----	-----

Mezclar y dejar en reposo 15 min a 37°C.

Reactivo de fenol (3)	2.5 ml	2.5 ml	2.5 ml
Solución de hipoclorito (4)	2.5 ml	2.5 ml	2.5 ml

Mezclar y dejar en reposo durante 15 min a 37°C

### CALCULOS

Medir las extinciones de los problemas y del patrón contra el blanco de reactivos. A una longitud de onda de 546 nm. (29, 58).

$$C = EPr \times \frac{40}{EPa} = \text{mg/dl de urea}$$

$$C = EPr \times \frac{\text{orina: } 40 \times V}{EPa} = \text{g/24 h}$$

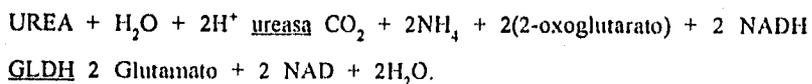
Valores de referencia:

Suero: 20 - 40 mg/dl

Orina: 20 - 35 g/24 hrs. de urea.

#### 4.1.2 UREASA/GLDH

El método enzimático más común para determinar la concentración de urea en suero u orina es la medición del amoníaco en la reacción con la ureasa acoplado con una reacción de NAD/NADH indicadora que se mide a 340 nm. (29, 72).



#### Reactivos.

Solución amortiguadora de sustrato:

NADH/GLDH (liofilizado)

Suspensión de ureasa

Solución Reactiva: Disolver el contenido de un frasco 2 con el contenido de un frasco 1 y adicionar 1.5 ml del frasco 3, mezclar suavemente y dejar en reposo durante 15 min.

#### TECNICA

Pipetear en tubos de ensayo	Blanco	Patrón	Problema
Solución Reactiva	2 ml	2 ml	2 ml

Incubar aproximadamente 15 min a temperatura ambiente. La reacción se inicia al adicionar el patrón y el problema.

Solución Patrón	-----	0.010 ml	-----
Problema	-----	-----	0.010 ml

Reposar 1 min y después leer las extinciones del blanco, patrón y del problema.

Medir las (E2), exactamente 5 min después de la primera lectura. (29,72).

CALCULOS:

$$C = \frac{E_{pr}}{E_p} \times 80 = \text{Concentración en mg/dl}$$

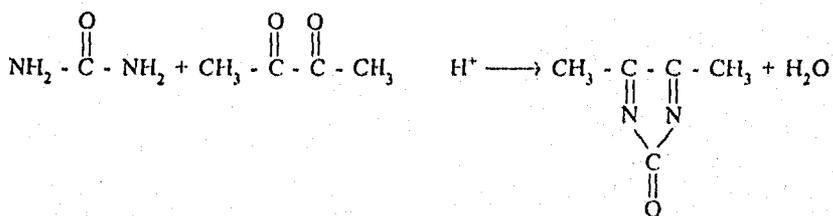
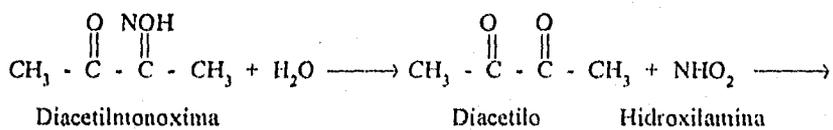
Valores de Referencia:

Suero 20 a 40 mg/dl

Orina 20 a 35 g/24 hrs.

### 4.1.3 METODO DE DAM

El único análisis químico directo para la urea, ha sido la reacción de la diacetil monoxima (DAM). La DAM no reacciona directamente con la urea sino que primero es hidrolizada formando diacetilo e hidroxilamina. En solución ácida el diacetilo se condensa con la urea formando una diazina amarilla. (72).



UREA

DIACETILO

DIAZINA (amarilla)

## TECNICA

### Reactivos:

Solución de ácido tricloroacético 5% (1)

Solución de catalizadores (2)

Solución de DAM (diacetilmonoxima) (3)

Solución patrón de urea. (4 mg/dl)-(4)

### Método Normal.

Pipetear en tubos de ensayo	Problema	Patrón	Blanco
Solución 1	1.0 ml	1.0 ml	-----
Suero	0.05 ml		
Solución 4	-----	0.05 ml	-----
Mezclar y centrifugar durante 5 min.			
Sobrenadante	0.05 ml	0.05 ml	-----
Solución de catalizadores 2	1.0 ml	1.0 ml	1.0 ml
Solución de DAM 3	1.0 ml	1.0 ml	1.0 ml

Mezclar y dejar 6 min en baño de agua hirviendo. Medir las extinciones de los problemas y patrones contra el blanco, no antes de 10 minutos de haberlos sacado del baño. (16, 29). Leer a 546 nm.

Método rápido sin desproteinización.

Dilución Previa.

Suero o plasma: 0.05 ml de suero o plasma se diluye con 1 ml de agua.

Orina: 0.05 de orina se completan hasta 100 ml (mezclar) Soln Patrón :0.05 ml de solución patrón se diluye con 1 ml de agua.

Pipetear en tubos de ensayo	Problema	Patrón	Blanco
Suero o plasma diluido u	-----	-----	-----
Orina diluida	0.05 ml	-----	-----
Soln patrón diluida	-----	0.01 ml	-----
Soln de catalizadores	1.0 ml	1.0 ml	1.0 ml
Soln de DAM	1.0 ml	1.0 ml	1.0 ml

Mezclar y dejar 6 min en baño de agua hirviendo. Medir las extinciones de los problemas y patrones contra el blanco, no antes de 10 min después de haberlos sacado del baño. (16, 29)

### C A L C U L O S

Suero o plasma      Concentración de urea =  $\frac{EPr}{Ep} \times 40 \text{ mg/dl}$

Orina      Eliminación de urea =  $\frac{EPr}{EP} \times 38.1 \frac{Vg}{24 \text{ hr}}$

V = volumen de la orina en 24 hrs.

Valores de referencia: Suero 20 a 40 mg/dl, orina 20 a 35 g/24 hrs.

## 4.2 CREATININA

La creatinina es un producto de desecho del metabolismo de la creatina, cuya medición es un índice de la función del riñón. El compuesto original, creatina se sintetiza en el hígado y páncreas principalmente, de donde se transporta a varios órganos, donde por fosforilación se convierte en reservorio de fosfato de alta energía. (45, 62).

En condiciones normales, la cantidad diaria de creatinina producida, es constante y depende del índice metabólico. La creatinina se difunde en la sangre circulante a velocidad constante y sufre una influencia mínima de la ingesta dietética, por lo que la carga presentada al glomérulo es constante. (45, 89, 62).

Su excreción se realiza casi totalmente por filtración glomerular sin que haya una participación tubular significativa, la concentración sérica de la creatinina refleja estrechamente el IFG, que indica el volumen de sangre filtrado por ambos riñones en un minuto. Este índice IFG puede ser estimado a partir de la creatinina sérica, si la edad, sexo y peso de la persona son consideradas. Esta prueba es muy sensible y frecuentemente indica una disminución de la función renal. (89).

El metabolismo de la creatina y creatinina involucra varias reacciones en diferentes partes del cuerpo.

## EN EL RIÑÓN

Arginina + Glicina  $\xrightarrow{\text{transaminasa}}$  Ornitina + ácido guanidoacético.

## EN EL HIGADO:

L-Metionina + ATP  $\xrightarrow{\text{transferasa}}$  S - adenosil - L - metionina + ortofosfato + pirofosfato.

S - adenosil - L - metionina + ácido guanidoacético  $\xrightarrow{\text{metiltransferasa}}$   
S - adenosil - L - homocisteina + creatina.

## EN EL MUSCULO:

Creatina + ATP  $\xrightarrow{\text{creatina quinasa}}$  Creatinafosfato + ADP

Creatinafosfato  $\longrightarrow$  creatina + fosfato inorgánico. (68).

A partir de estudios farmacodinámicos del metabolismo de la creatinina, se ha estimado que la vida media biológica de la creatinina en un adulto normal es de 3.85 hrs. y se espera que se prolongue a 7.7 hrs. con una reducción del 50% de la función renal. (14).

Con el progreso del deterioro de la función renal, es de esperar que ocurra una prolongación de la vida media de la creatinina que debe ser de 38.5 hrs. y 77 hrs. al 10% y 5% respectivamente. (14).

En la insuficiencia renal aguda, la concentración plasmática de creatinina aumenta a un ritmo diario de 2-3 mg/dl en proporción directa a la cantidad de creatinina que es retenida en el cuerpo y en la reducción de la función renal, mientras que en la insuficiencia renal crónica, la excreción urinaria de creatinina disminuye a medida que se eleva la concentración plasmática y el ritmo de incremento diario en la concentración plasmática de creatinina es sólo de un 50% y 33% del que se espera por la creatinina retenida como resultado de la disminución de la función renal. (31).

#### 4.2.1 DEPURACION

El concepto de depuración o aclaramiento renal fue introducida por Austin Stillman en 1921 (45). Por definición se entiende que la depuración renal de una sustancia, es el "volumen de plasma que contiene una cantidad de sustancia equivalente a la que el riñón excreta en la orina en un minuto".

Para realizar la prueba se necesita recoger orina por un periodo de 24 hrs. y extraer una muestra de sangre al final del periodo de recolección de la orina. Se calcula la concentración de creatinina en ambas muestras y la depuración de creatinina se calcula mediante la siguiente fórmula:

## DEPURACION DE CREATININA

$$\frac{UV}{P} \times \frac{1.73}{S}$$

Donde

U = Concentración de creatinina urinaria

V = Volumen de orina en 24 hrs.

S = Superficie corporal calculada para el paciente

P = Concentración de creatinina plasmática

1.73 = Superficie corporal de una persona estándar de 70 kg. (45, 72, 89).

La determinación de la depuración también puede realizarse en diferentes periodos de tiempo como puede ser 1, 4, 12, 24 hrs., parece ser que la reproducibilidad de la prueba efectuada en un periodo de recolección de 1 hora es comparable con la de 24 hrs. (31,45).

Pero la determinación con muestra de 24 hrs. permite la mejor representatividad cronológica de la muestra a lo largo de todo el día. En las determinaciones realizadas en una hora, se han encontrado valores de un 7% a 11% más altos que los realizados en 24 hrs., la depuración de creatinina está disminuida en los niños muy pequeños, pero alcanza las cifras del adulto entre 1 y 3 años de edad, el aclaramiento de creatinina se mantiene constante hasta la cuarta década de vida en el cual empieza a declinar en un ritmo de 6.5 ml/min/década. (31, 45).

En la gestación se observa un incremento en la depuración, y la concentración plasmática de creatinina se encuentra disminuida. Se suele afirmar habitualmente que, los aumentos de la creatinina plasmática no constituyen pruebas de nefropatía hasta que las depuraciones han disminuido a menos de 50% del valor normal. (1,45).

Se ha encontrado que los valores de depuración de creatinina de 20 a 40% nos indican un severo daño renal, de 40 a 60% indican moderado daño renal y de 60 a 90% indican un funcionamiento aparentemente normal. (68).

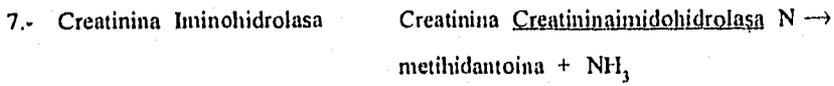
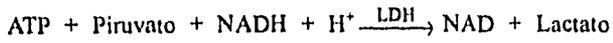
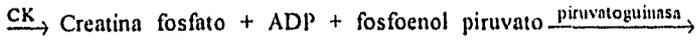
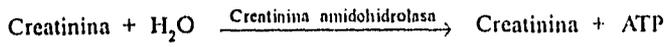
En la tabla número 4, se observan algunos de los métodos utilizados más comunmente para la determinación de creatinina.

T A B L A 4

METODOS PARA EL ANALISIS DE LA CREATININA

METODO	TIPO DE ANALISIS	PRINCIPIO
1.- Jaffé	Espectrofotométrico (520 nm) punto final cuantitativo	Creatinina + Picrato OH-complejo de Janovsky (rojo)
2.- Jaffé/Tierra de Fuller	Igual a 1. Se aísla la creatinina, se agrega el reactivo de picrato a la suspensión con absorbente-creatinina.	Como en 1
3.- Jaffé Cinético	Espectrofotométrico, cuantitativo durante el desarrollo temprano de color.	Como en 1
4.- Jaffé, pH dual	Como en 1 usando pH de 9.65 como blanco	Como en 1
5.- Cromatografía	Separación de la creatinina por intercambio catiónico o, en fase inversa.	Como en 1 a 200 nm
6.- Creatinina Amidohidrolasa	Hidrólisis enzimática de creatinina a 340 nm.	

ESTA TESIS NO DEBE  
SALIR DE LA BIBLIOTECA



(89)

#### 4.2.2 CROMATOGRAFIA

La cromatografía es un proceso para la separación de mezclas moleculares por la distribución de los solutos entre dos fases, las cuales están en contacto de una forma parecida a una contracorriente continua. (22).

Existen diversos tipos de cromatografía, una de ellas es la HPLC (cromatografía líquida de alta presión), que se basa en un principio de separación de mezclas, también llamada cromatografía de participación. (22).

En todos los tipos de cromatografía, una de las fases permanece inmóvil y la otra se mueve de una manera continua, se utilizan a menudo los términos de fase estacionaria y fase móvil para referirse a estas dos fases. (22).

En la cromatografía de partición, ambas fases son líquidas, la fase estacionaria es la más polar de los dos líquidos, esta fase se absorbe en una película muy delgada a la superficie de un sólido finamente dividido (el soporte). En teoría, el único papel del soporte en la cromatografía líquido-líquido, es contener a la fase estacionaria. La fase móvil es un solvente menos polar inmiscible con la estacionaria, muy a menudo la fase estacionaria es agua o una solución acuosa y la fase móvil un solvente orgánico. (22).

Cuando la fase estacionaria es un solvente no polar y la fase móvil es polar, esa técnica se conoce como cromatografía de fase invertida.

En este tipo de cromatografía se emplean altas presiones para conducir la

fase móvil a través de una columna, se trabaja con columnas de vidrio o acero, que contienen un diámetro de 1-3 mm. El detector es decisivo en el sistema, el detector más usado es el de absorción ultravioleta, ese detector es muy sensible para compuestos que absorben en la región ultravioleta. El registro representa la absorbencia en función del tiempo y de un cromatograma diferente.

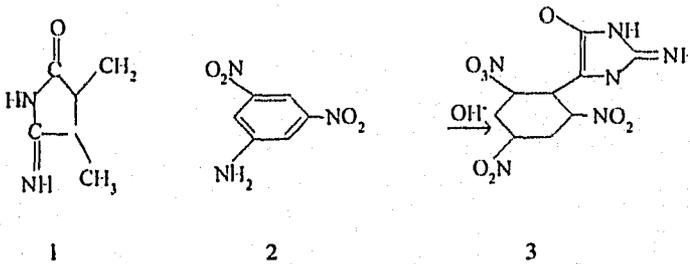
Este tipo de cromatografía (HPLC) se usa generalmente para evaluar métodos de referencia. (22, 72).

## CREATININA

### 4.2.3 METODO DE JAFFE.

El método de Jaffe para el análisis químico de la creatinina descrito en 1886, tiene la distinción de ser el método químico clínico más antiguo en uso (72). Esta prueba está basada en la reacción de creatinina con solución alcalina de picrato de sodio, formando un complejo rojo, de Janovski, la absorbancia se mide a 510 nm.

Reacción:



Creatina

+

Picrato

Complejo de Janovski

1

2

3

## T E C N I C A

Reactivos:

- 1 Solución amortiguadora
- 2 Solución de ácido picrato
- 3 Solución patrón

Pipetear en tubos de ensayo	Problema	Patrón
Suero u orina diluida 1 + 99 (1:100)	0.5 ml	-----
Solución Patrón (3)	-----	0.5 ml
Acido picrico (2)	1.0 ml	1.0 ml
Mezclar, dejar reposar durante 5 min.		
Solución amortiguadora	1.0 ml	1.0 ml

Mezclar, y medir inmediatamente la extinción  $E_1$  antes de transcurrir un minuto.

Medir la extinción  $E_2$  exactamente 5 min después de la primera lectura.

Longitud de onda 492 ó 500 nm

## C A L C U L O S

$$\text{EN SUERO : Concentración de creatinina} = \frac{E_2 \text{ Probl} - E_1 \text{ Probl}}{E_2 P - E_1 P}$$

$$\text{ORINA: Concentración de creatinina} = \frac{E_2 \text{ Probl} - E_1 \text{ Probl}}{E_2 P - E_1 P} \times 100 \text{ mg/dl}$$

## Valores de referencia

### Suero:

Mujeres: de 0.6 a 0.9 mg/dl

Hombres: de 0.7 a 1.1 mg/dl

### ORINA:

Eliminación de creatinina/kg de peso corporal en 24 hrs.

Mujeres: de 7.3 a 1.4 mg/kg

Hombres: de 8.7 a 24.6 mg/kg.

Para calcular los valores para la depuración de creatinina, se obtiene la concentración de creatinina en orina y se utiliza la fórmula ya descrita anteriormente. (29, 68, 72, 58).

### Valores de referencia:

Mujeres: 95 - 155 ml/min

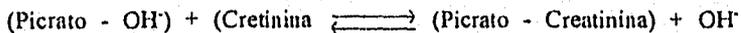
Hombres: 98 - 156 ml/min

#### 4.2.4 METODO DE JAFFE CINETICO

Este método requiere equipos automatizados, la reacción se lleva a cabo entre 10 y 60 segundos después de la mezcla de los reactivos, mediciones posteriores se realizan durante un periodo que oscila entre 16 y 120 seg. no es necesaria la desproteinización, ya que la reacción entre el picrato alcalino y la proteína es lenta y no se produce una interferencia capaz de influir durante el intervalo usual de la reacción cinética. (11, 12, 72).

Se ha propuesto una reacción para ilustrar el método cinético de Jaffé que se realiza en los aparatos automatizados.

REACCION:

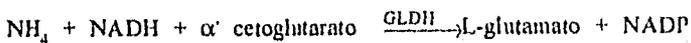
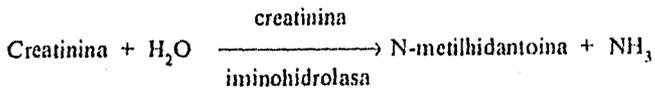


Es un método espectrofotométrico, cuantitativo que desarrolla temprano el color de la reacción y que generalmente se lleva a cabo a una temperatura de 37°C y se lee a 520 nm. (11, 12, 84).

#### 4.2.5 IMINOHIDROLASA

Recientemente nuevos procedimientos han sido utilizados para medir la creatinina, estos procedimientos involucran el uso de enzimas, las enzimas más comúnmente utilizadas son: Iminohidrolasa e amidohidrolasa. (48, 94).

#### REACCION:



Esta reacción puede ser determinada espectrofotométricamente a 510 nm.  
(2, 54, 72)

#### REACTIVOS:

Solución (1): Buffer/Sustrato: que contiene hidroximetilamina glutamato deshidrogenasa, NADPH, ADP,  $\alpha'$  cetogluturato de sodio.

Solución (2): Creatinina iminohidrolasa, estable un año.

Solución (3): Estándar de creatinina.

Los reactivos vienen disponibles en un equipo comercial.

## T E C N I C A

100 ml de muestra (suero, plasma u orina diluida 1:100) se adicionan a 1 ml de solución buffer/sustrato.

Se deja 15 min. a temperatura ambiente para eliminar el amoniaco-endógeno.

Se mide la Absorbancia ( $A_1$ ) contra agua.

Se adiciona 10 ml de iminohidrolasa, se mezcla y se deja 15 min, a temperatura ambiente.

Se mide la Absorbancia ( $A_2$ ). (94,86).

## C A L C U L O S

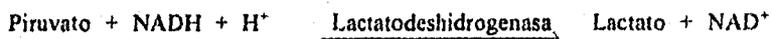
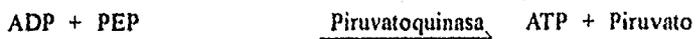
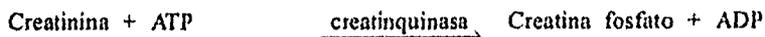
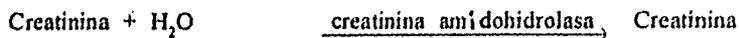
Se determinan los cambios de absorbancia.

( $A_1 - A_2$ ) y se compara con valores obtenidos del estándar.

#### 4.2.6 AMIDOHIDROLASA

Hidrólisis enzimática de la creatinina.

Reacción:



(48, 66, 72).

Reactivos:

Mezcla de reactivos: ATP, fosfoenolpiruvato, acetato de magnesio, NADH, lactato deshidrogenasa, piruvato quinasa, creatinquinasa.

Solución de creatinina aminohidrolasa

Solución estándar de creatinina

Absorbancia medida a 340 nm.

## T E C N I C A

Incubar 250  $\mu$ l de muestra o estándar por 5 min a 30°C, con 3 ml de la mezcla de reactivos.

Registrar las lecturas durante 3 min, a 340 nm.

Adicionar 50  $\mu$ l de creatinina amidohidrolasa

1 min, después registrar la absorbancia por espacio de 3 min.

Preparar una curva estándar de creatinina con (1, 10, 20, 40, 60, 80, 100) mg respectivamente.

## C A L C U L O S

Se calculan las diferencias de las absorbancias, y la concentración de la creatinina es determinada de la curva estándar de creatinina (48, 66).

#### 4.2.7 METODO HPLC

Procedimientos más rápidos y específicos para la determinación de creatinina en suero y en orina han sido bien desarrollados (87), uno de estos procedimientos desarrollados es el HPLC, método que separa y cuantifica la creatinina de otros compuestos por medio de un cambio catión cromatográfico, la creatinina es medida y cuantificada a una absorbancia de 234 nm. (24, 42, 50, 87).

El método de HPLC en el cambio catiónico se utiliza un pH ácido, ya que a ese pH la molécula de creatinina es catiónica y es retenida por el catión. La detección de la creatinina es sensible a pH neutro, (50), la determinación de creatinina por este método se lleva a cabo por una reacción de jaffé.

#### REACTIVOS:

Solución amortiguadora de citrato (pH 4.25), también se puede utilizar acetato de litio (pH 7.0).

Acido tricloroacético

Solución estándar de creatinina

Solución de ácido acético

#### CONDICIONES:

Aparatos: Se utiliza un cromatógrafo líquido de alta resolución que tenga integrado un detector esofotómetro, existen diversos tipos de aparatos para realizar las pruebas, por lo que no se puede especificar el utilizar una marca

o tipo específico.

Las condiciones de uso de las demás partes del aparato varían de acuerdo al tipo de aparato, pero en general, son condiciones muy similares.

Tamaño de columna: 100 mm x 3 mm

Velocidad de flujo: ml/min

Temperatura de la columna 30°C

Absorbancia 234 nm

#### TECNICA

300 µl de suero se adiciona a 300 µl de ácidos tricloroacético

Mezclar y centrifugar por 2 min

Injectar 20 µl de muestra desproteïnizada al líquido cromatográfico

Eluir la muestra con la fase móvil

La velocidad de flujo debe ser de 2 ml/min

Realizar una curva estándar con la solución estándar de creatinina

Obtener el pico del cromatograma para la creatinina

Para muestras de orina se trabaja igual a la de suero, pero con una dilución 1/20.

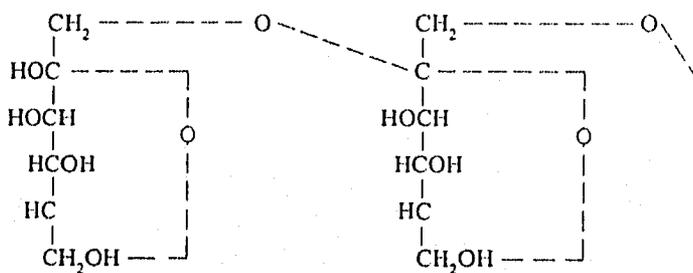
#### CALCULOS

El pico del cromatograma de la creatinina de la muestra problema es identificado por el tiempo de retención, y la cantidad es medida al hacer la comparación con el pico alto de la curva estándar realizada. (24, 50, 87, 72, 42).

### 4.3 INULINA

Es un polisacárido compuesto de unidades de D fructuosa, con un peso molecular de 5000 D y 14 Å de diámetro. (45).

Físicamente es un polvo blanco más o menos cristalino y debido a la presencia de unidades de fructofuranosa, se hidroliza muy fácilmente por los ácidos y en agua caliente, pero es poco soluble en agua fría. (45, 92, 93).



molécula de inulina

La inulina es metabólicamente inerte, no tóxica, no está ligada a proteínas plasmáticas y no es excretada en la orina, después de ser administrada no tiene efectos intrínsecos detectables sobre la función renal, se filtra libremente en el glomérulo y no es excretada ni reabsorbida por los túbulos. (21, 31, 45).

Su interés desde el punto de vista químico clínico radica en el hecho de que esta sustancia se utiliza para determinar la velocidad de filtración glomerular. (GFR). (45).

#### 4.3.1 ADMINISTRACION DE LA INULINA

Para realizar la prueba se debe tener todos los datos del paciente como son: la edad, sexo, estatura y peso para poder preparar las soluciones que se le administrarán. (52)

Se deben interrumpir diuréticos e hipertensivos 48 hrs antes de la prueba, el paciente no debe comer sólidos 4 hrs antes y debe de tomar suficiente agua antes de la prueba. (31).

El paciente debe vaciar toda su vejiga 1 hr antes de la prueba y se conservar parte de la orina para ser tratada como orina inicial. (52, 31).

#### PREPARACION DE LA INULINA

Considerando que el espacio de distribución de la inulina es del 20%, (21, 31) en pacientes no edematosos (21), que el nivel plasmático deseado es de 250 mg/kg y que la concentración de inulina en la solución original es del 10%, el volumen de inulina a ser usado como dosis inicial se calcula de la siguiente manera: (31, 105).

FORMULA:

$$\frac{\text{Espacio de distribución X nivel plasmático deseado}}{\text{concentración en solución original}} \\ = \frac{\text{ml de solución original}}{\text{kg de peso corporal}}$$

#### 4.3.1 ADMINISTRACION DE LA INULINA

Para realizar la prueba se debe tener todos los datos del paciente como son: la edad, sexo, estatura y peso para poder preparar las soluciones que se le administrarán. (52)

Se deben interrumpir diuréticos e hipertensivos 48 hrs antes de la prueba, el paciente no debe comer sólidos 4 hrs antes y debe de tomar suficiente agua antes de la prueba. (31).

El paciente debe vaciar toda su vejiga 1 hr antes de la prueba y se conservar parte de la orina para ser tratada como orina inicial. (52, 31).

#### PREPARACION DE LA INULINA

Considerando que el espacio de distribución de la inulina es del 20%, (21, 31) en pacientes no edematosos (21), que el nivel plasmático deseado es de 250 mg/kg y que la concentración de inulina en la solución original es del 10%, el volumen de inulina a ser usado como dosis inicial se calcula de la siguiente manera: (31, 105).

FORMULA:

$$\frac{\text{Espacio de distribución} \times \text{nivel plasmático deseado}}{\text{concentración en solución original}} = \frac{\text{ml de solución original}}{\text{kg de peso corporal}}$$

$$= \frac{0.20 \times 1 \text{ kg} \times 250 \text{ mg/kg}}{100 \text{ mg/ml}} = \frac{0.5 \text{ ml de solución original}}{\text{kg de peso}}$$

Estos 0.5 ml de la solución original se diluyen hasta 50 ml con solución salina fisiológica.

Las concentraciones de inulina en plasma se mantienen constante durante el estudio por medio de una infusión continua de una solución de mantenimiento de inulina, la dosis de sostén de inulina se estima de acuerdo a los siguientes cálculos.

$$\frac{\text{Aclaramiento normal} \times \text{concentración plasmática deseada} \times \text{duración de la prueba (min)}}{\text{Concentración de la solución original}}$$

Para la inulina el aclaramiento normal es de 125 ml/min (31) la concentración plasmática deseada es de 25 mg/dl y la duración de la prueba es de 3.2 hrs aproximadamente, la concentración de la solución original es de 10%, por lo tanto, tenemos que:

$$\frac{125 \text{ ml/min} \times 25 \text{ mg/dl} \times 200 \text{ min}}{100 \text{ mg/dl}} = 62.5 \text{ ml de solución original de inulina}$$

La infusión de mantenimiento se prepara diluyendo las cantidades apropiadas hasta 200 ml con solución salina fisiológica.

Se obtiene sangre del paciente y se utiliza como muestra inicial, tanto la

sangre como la orina se obtiene antes de la administración de la sustancias. (52).

Se le inyecta la solución inicial al paciente a un ritmo de 1 mil/min. Se efectúan tomas de muestra de sangre y orina los 5 min después de iniciada la infusión y después de cada 30 min.

Las cantidades del volumen de las muestras de infusión, han sido calculadas para una persona con función renal normal y deben ser corregidas para cada paciente en particular. (31, 52).

En las figuras 1 y 2 se pueden observar las depuraciones de inulina en pacientes con función renal normal y en pacientes con función renal disminuida.

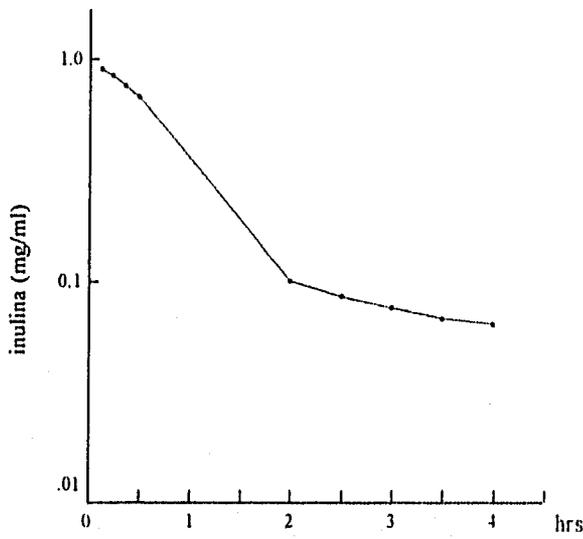


FIG. 1 Concentración de inulina en plasma en personas sanas, después de una inyección intravenosa (IFG=118 ml/min.) (21)

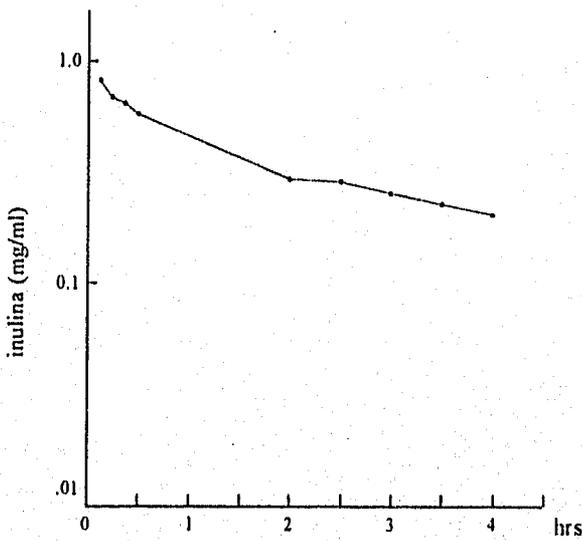


FIG. 2 Concentración de inulina en plasma en personas con deterioro renal, después de una inyección intravenosa (IFG=38 ml/min.) (21)

## MÉTODOS PARA LA DETERMINACION DE INULINA

### 4.3.2 METODO DE HENROVSKY

La inulina es hidrolizada a fructuosa y se determina entonces la fructuosa fotométricamente debido al color púrpura-violeta que se forma al reaccionar con ácido indol 3-acético en HCL. (45).

#### REACTIVOS

Reactivo de ácido indol 3-acético al 5% en etanol.

Acido clorhídrico concentrado

Patrón de inulina, 0.05 mg/ml

Muestras: sangre y orina

#### TECNICA

Desproteínizar previamente las muestras, mezclando 1 ml de las muestras con 4 ml de ácido tricloroacético centrifugando y filtrando. Las muestras de orina deben diluirse habitualmente 1:10 con agua.

Las muestras contendrán en esas condiciones de 0.01 a 0.10 mg/ml de inulina.

Tomar alícuotas de 1 ml del filtrado, orina diluida, patrón y de blanco (blanco de reactivos) y agregar a los mismos 0.2 ml del reactivo de ácido indol acético, 8 ml de HCL y mezclar.

Colocar las muestras en baño de agua a 37°C durante 75 min. Enfriar a temperatura ambiente y leer las absorbancias de los problemas del patrón y del blanco de reactivos frente a agua a 520 nm. (45).

### CALCULOS

Suero o plasma:

$$\begin{aligned} \text{mg de inulina/100 ml} &= \frac{A_x - A_b}{A_p - A_b} \times 0.05 \times \frac{100}{0.2} \\ &= \frac{A_x - A_b}{A_p - A_b} \times 25 \end{aligned}$$

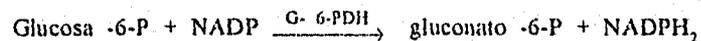
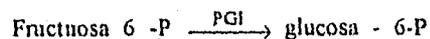
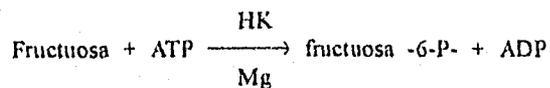
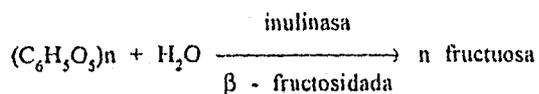
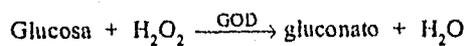
Orina:

$$\begin{aligned} \text{mg de inulina/100 ml} &= \frac{A_x - A_b}{A_p - A_b} \times 0.05 \times \frac{100}{0.01} \\ &= \frac{A_x - A_b}{A_p - A_b} \times 500 \end{aligned}$$

### 4.3.3 METODO ENZIMATICO

La inulina es hidrolizada por la inulinasa a monómeros de fructosa, posteriormente la fructuosa es convertida a glucosa 6 fosfohexicinasa (HK) con 6-fosfodeshidrogenasa (G-6-PDH). (53)

#### REACCIONES



#### REACTIVOS

GOD (glucosa oxidasa) liofilizado.

Inulinasa.

H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (al 30%)

Acido cítrico/citrato de sodio

Prueba combinación de glucosa-fructuosa

## PREPARACION DE LAS SOLUCIONES

Soln amortiguadora de citrato .2 M (pH 5.0).

El test de combinación de glucosa-fructuosa que contiene: un frasco con  $MgSO_4$ , NADP, ATP, disueltos en 80 ml de  $H_2O$ ; los frascos 2 y 3 contienen: HK/ G- 6-PDH/PGI, que se mezclan en razón 1:1.

### MEZCLA DE SOLUCIONES

Solución sin $H_2O_2$	
Buffer de citrato 0.2 M(pH 5.0)	10 ml
GOD	5.0 mg
Inulinasa	0.2 ml
Solución con $H_2O_2$	
Buffer de citrato 0.2 M(pH 5.0)	5.0 ml
$H_2O_2$ (30%)	0.05 ml

### PROCEDIMIENTO

#### Oxidación e hidrólisis

suero, plasma u orina:	0.1 ml
mezcla de solución 1:	0.2 ml
mezcla de solución 2:	0.1 ml

Se mezclan las soluciones y se incuban inicialmente por 60 min a 37°C.

La determinación se lleva a cabo a 365 nm. Se pipetea a la mezcla de incubación 1.0 ml del frasco No. 1 y se transfiere a la cubeta de incubación y se determina la primera lectura.  $A_1$ .

Se adiciona enseguida la mezcla de enzimas (frasco 2 y 3) HK/G -6-PDH/ PGI: 0.2 ml, se mezcla y se reposa de 10 a 20 min, para completar la reacción. Se determina la segunda lectura  $A_2$ . (45, 83).

#### CALCULOS

$$A_1 - A_2 - A_b = A_{\text{fructuosa}}$$

$$A_{\text{fructuosa}} \times 0.688 = \text{mg inulina/ml}$$

#### 4.3.4 METODO INZIMATICO AUTOMATIZADO

Ha sido modificado el método enzimático utilizando inulinasa y sorbitol deshidrogenasa para medir la inulina. (93).

#### REACTIVOS

Inulinasa: solución líquida (24000 U/L)

Sorbitol deshidrogenasa (líoofilizado)

NADH (2 mg/vial).

Inulina

#### PROCEDIMIENTO

Se utilizan aparatos automatizados, longitud de onda 340 nm, temperatura de 37 °C, unidades: mg/l.

El tamaño de la muestra es de 20 µl de suero o plasma, la orina se diluye previamente 1:50 y también se ocupa 20 µl.

Se mezcla 20 µl de la muestra, ya sea orina, suero o plasma con 100 µl de la inulinasa.

Se incuba la mezcla 10 min, a 37°C.

Después de la hidrólisis de la inulina a fructosa, se adiciona una mezcla que contiene 80 µl de sorbitol deshidrogenasa y 800 mg/l de NADH.

La mezcla se incuba por espacio de 20 min (para el consumo de NADH y reducción de la fructosa a sorbitol).

Finalmente, se monitorea la reacción a 340 nm. (49, 93).

#### 4.3.5 METODO DE ANTHRONE

La determinación de la concentración de inulina fue optimizada por un método colorimétrico basado en la determinación de fructuosa con el reactivo de Anthrone después de la hidrólisis de la inulina con ácido. (44, 49, 93).

#### REACTIVOS

Acido tricloroacético.

Reactivo de Anthrone (5.15 mmol/l de ácido sulfúrico concentrado)

Estandar de inulina 10 mg/l

Muestras: suero, plasma u orina.

#### PROCEDIMIENTO

Las muestras, ya sean de suero, plasma u orina, fueron desproteinizadas con el ácido tricloroacético.

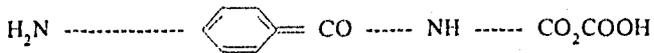
Alicuotas de cada muestra (250 ml) fueron mezcladas con 2.5 ml del reactivo de Anthrone y se incuban por espacio de 1 hora en baño de agua a 55 °C.

La absorbancia de cada muestra fue leída a 620 nm. La concentración se calcula por la comparación con la absorbancia del estándar. (49, 93).

#### 4.4 ACIDO P-AMINOHIPURICO

Hay varias sustancias cuyos valores de depuración son mayores que el de la inulina, lo cual significa que estas sustancias son secretadas en el líquido tubular por las células tubulares.

Entre esas sustancias figuran: el  $\text{NH}_4$ , fenofaleína, rojo de fenol y el p-aminohipúrico. (92).



Acido p-aminohipúrico (PAH).

El PAH es una sustancia que no es tóxica, no penetra en los hematies del hombre, no está muy unido a proteínas, estratado libremente por la nefrona por un proceso de filtración glomerular y de secreción tubular proximal por lo que su concentración en plasma y en orina puede determinarse fácilmente. (14, 31).

La secreción de PAH, es tan efectiva que a bajos niveles de esta sustancia en el plasma, no aparecen en la sangre venosa renal lo que indica la eliminación completa por un sólo paso por el riñón, por lo que el PAH, refleja uno de los sistemas de transporte de aniones orgánicos más importantes para el riñón. (92).

Para cifras plasmáticas bajas, la sangre que sale del riñón ya no contiene PAH, por lo tanto, la medición de la depuración de PAH por minuto en estas condiciones permite conocer el volumen de plasma depurado. (85), medición que es conveniente en quienes se sospecha de trastornos de la función renal. (14, 52).

Esta depuración se puede ver afectada por la edad, como se observa en la figura 3.

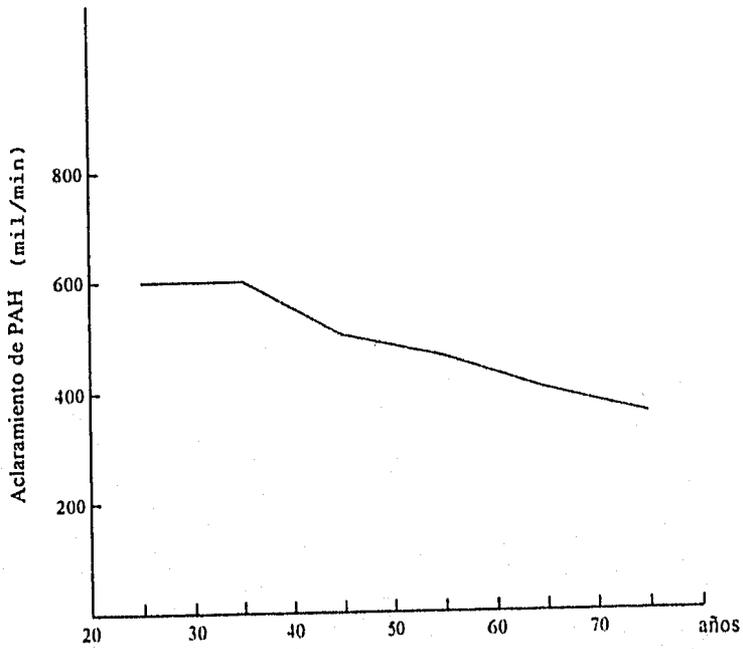


FIG. 3 Relación entre el Aclaramiento total de PAH y la edad (87).

## PROTOCOLO DE LABORATORIO PARA PAH

Para realizar el aclaramiento de PAH se sigue el mismo procedimiento que se realiza para el aclaramiento de inulina con el paciente.

### 4.4.1 PREPARACION DEL PAH

Si se considera que el espacio de distribución del PAH es del 40% (31) y que el nivel plasmático deseado es de 25 mg/kg y la concentración de la solución original es del 20%, por lo tanto, la dosis inicial del PAH se calcula como sigue:

#### FORMULA

$$\frac{\text{ml de la solución original}}{\text{kg de peso corporal}} =$$

$$\frac{\text{Espacio de distribución x nivel plasmático deseado}}{\text{Concentración de la solución original}} =$$

$$\frac{0.40 \times 1 \text{ kg} \times 25 \text{ mg/kg}}{200 \text{ mg/dl}} =$$

$$\frac{0.05 \text{ ml de la solución original de PAH}}{\text{Kg de peso corporal}}$$

Esta solución inicial de 0.05 ml se diluyen con solución salina fisiológica hasta 50 ml.

Las concentraciones de PAH en plasma se mantienen constantes durante todo el estudio, por medio de una infusión constante de mantenimiento. (31, 52).

La dosis de sostén del PAH se estiman de acuerdo a los siguientes cálculos:

#### FORMULA

$$\frac{\text{Aclaramiento normal X concentración plasmática deseada X duración de la prueba en minutos}}{\text{Concentración de la solución original}}$$

Para el PAH, el aclaramiento normal es de 600 ml/min (31), el nivel plasmático deseado es de 2.5 mg/dl, la duración de la prueba es, aproximadamente, de 3.2 hrs. y la concentración de la solución original es del 20%, por lo tanto, tenemos que:

$$\frac{600 \text{ ml X } 2.5 \text{ mg X } 200 \text{ min}}{200 \text{ mg/ml}} = 15 \text{ ml de la solución original de PAH}$$

La infusión de mantenimiento se prepara diluyendo las cantidades apropiadas, hasta 200 ml con solución salina fisiológica.

Se inyecta la solución de PAH ya preparada, a velocidad de 1 ml/min.

Se efectúan tomas de muestra de sangre y de orina antes de la administración de la solución, para tenerlas como muestras iniciales, se efectúan posteriormente tomas de muestras en intervalos de 30 min cada una, hasta completar el tiempo de la prueba. (5, 31).

#### 4.4.2 METODOS PARA LA DETERMINACION DEL PAH

##### METODO DE VARLEY

En el filtrado libre de proteínas, el grupo amino de PAH, se diazoa con ácido nitroso y se combina a diclorhidrato de N- (1-naftil) etilendiamina, dando un color magenta, cuya absorbencia se compara con la de patrones adecuados, que se lee a 550nm. (29, 58, 52).

##### REACTIVOS

Acido tricloroacético al 20%

$\text{NO}_2\text{Na}$  al 0.10%

Sulfamato de amonico al 0.5%

Reactivo IV de Trefouel (monoclorhidrato de N- naftil N- dietil propilendiamina) al 0.10%.

Solución patrón de PAH

Solución de sulfamato de cadmio

NaOH

HCl

PROCEDIMIENTO

CURVA DE CALIBRACION

Solución patrón de PAH 20% ml	0.2	0.4	0.6	0.8	1.0	1.2	1.4	1.6	1.8	2.0
H <sub>2</sub> O ml	2.3	2.1	1.9	1.7	1.5	1.3	1.1	0.9	0.7	0.5
Acido tricloroacético al 20% (ml)	2.5	2.5	2.5	2.5	2.5	2.5	2.5	2.5	2.5	2.5
Concentración (mg/ml)	4.0	8.0	12	16	20	24	28	32	36	40

Añadir a cada tubo:

NO<sub>2</sub>Na al 0.10%..... 1 ml

Agitar y esperar 5 min.

Sulfamato amónico al 0.5%..... 1 ml

Agitar y esperar 5 min.

Reactivo 1V de Trefoucl al 0.1%..... 1 ml

Leer los tubos después de 15 minutos a 540 nm.

#### Procedimiento para plasma:

Centrifugar la muestra.

Obtener el plasma y añadir una cantidad igual de ácido tricloroacético al 20% y centrifugar.

Efectuar la dosificación sobre 5 ml del líquido obtenido, operando como para la calibración.

Hacer un blanco con la sangre testigo.

Leer los resultados sobre la curva de calibración.

#### Procedimiento para la orina:

Diluir la orina 1/100 ó 1/500

Mezclar 2.5 ml de la orina diluída con 2.5 ml de ácido tricloroacético al 20%.

Operar como para la calibración.

Leer los resultados sobre la curva de calibración y multiplicar por la dilución para obtener directamente en microgramos/ml ómg/l.

#### CALCULOS

$$\text{Aclaramiento de PAH} = \frac{\text{mg\% en la orina X eliminación urinaria ml/min}}{\text{mg \% en el plasma}}$$

## Valores Normales

Hombres 561 - 833 ml/min

Mujeres 492 - 696 ml/min (7, 29, 58)

En todos estos métodos utilizados para la evaluación de la función renal, los resultados que se obtienen van a variar desde obtener valores normales, hasta valores muy elevados, esto en plasma; por su parte, las depuraciones pueden encontrarse normales o disminuidas, todo esto depende del estado del paciente, de la enfermedad y del curso que siga la misma.

#### 4.4.3 METODO DE HPLC PARA DETERMINAR PAH

Para la determinación del flujo plasmático renal, el PAH ha sido usado frecuentemente como agente. Varios métodos de HPLC han sido publicados en años recientes para ser empleados en la determinación de PAH en fluidos biológicos. (10, 75).

#### REACTIVOS Y ESTANDARES

PAH y sales de sodio

Acido fosfórico (85%)

Soluciones estándares de PAH

Acetronilo

#### INSTRUMENTOS

Sistema de HPLC modelo (110A) y un filtro de detección de modelo (160) de Beckman instruments.

Inyector de muestra, modelo 7215, Rheodyne, CA, U.S.A.

C<sub>18</sub> como fase reversa, con tamaño de columna de 30 cm, tamaño de partícula de 10 m. Todo de Alltech Associates, IL. U.S.A.

#### PREPARACION DE LA FASE MOVIL

La fase móvil fue preparada mezclando 3.5 partes de acetronilo con 96.5 partes al 0.04% de solución de ácido fosfórico, esta mezcla tiene un pH de

2.5 + 0.05, con una velocidad de flujo de 1.5 ml/min.

### PREPARACION DE LA CURVA ESTANDAR

Alicuotas de 0.1 ml de suero humano con cantidades conocidas de solución de PAH, son pipeteadas en un tubo, se le añade 0.200 ml de acetronilo, se mezcla por unos segundos y luego se centrifuga por espacio de 5 min; del sobrenadante claro, 5 $\mu$ l son inyectados sobre la columna. La orina fue preparada de la misma manera.

La concentración de PAH va de un rango de 2.5 $\mu$ g - 50 $\mu$ g ml/plasma. Y de 10 $\mu$ g a 100 $\mu$ g/ml en orina.

Las muestras problemas son tratadas de la misma manera que las que se ocuparon para realizar la curva estándar.

### RESULTADOS

Los picos de los cromatogramas fueron medidos con la ayuda de un "micrometro", que es utilizado para cuatificar la concentración de PAH, para esto, es necesario utilizar la estructura de la curva estándar (75).

## ANALISIS DE METODOS

La elección de la metodología para el análisis de la función renal en el laboratorio, implica varias consideraciones, una de las más importantes, es la exactitud (72), especialmente para muestras de pacientes con problemas renales. Desde la introducción del aclaramiento de creatinina endógena, como medidor de la función renal, el método parece ser el más confiable para esa evaluación (85, 90), sin embargo, en pacientes donde la función renal se encuentra deteriorada como en la IRC, GN, Diabetes entre otras, este aclaramiento se encuentra disminuido (79, 104, 47, 15). En la práctica clínica, la determinación de creatinina en suero, es la prueba más empleada para la determinación del IFG (19), como una medida para la valoración de la función glomerular en pacientes sanos y en pacientes con daño renal.

El más usado actualmente para la determinación de creatinina, es el de Jaffé (59), sin embargo, este método no es el más específico, puesto que en el método sin modificaciones, cerca del 20% de la creatinina en suero, y cerca del 5% de la creatinina en orina, son en realidad otros compuestos que pueden interferir en los resultados (72). La ventaja principal del método de Jaffé, es su bajo costo de realización y es adaptable a su automatización. Entre sus desventajas, podemos encontrar que se ve afectado por varios metabolitos, lípidos y drogas. (33, 34). Existen varias sustancias que pueden dar interferencias positivas en el resultado de la creatinina, como son: ácido ascórbico, glucosa, acetoacetato, ácido úrico, acetona; y algunos antibióticos pueden formar compuestos coloreados que aumenten la absorbancia y dar valores elevados de creatinina (11, 33). Por otra parte, sustancias como la bilirrubina y la hemoglobina, que

reducen la absorbancia medida, provocando así una menor concentración en los valores de creatinina (11, 33, 43, 78). Estas interferencias negativas, también se pueden encontrar en el método cinético de la creatinina, este método se puede ver afectado por el piruvato cetoglutarato y oxalacetato. La ventaja principal del método cinético, es que la cantidad de muestra que se requiere para el análisis, es muy pequeña, además de que el método es muy rápido (72, 43, 78).

Por su parte, los métodos enzimáticos tienen la ventaja de que proveen una buena linealidad, lo cual es mejor que otros métodos; esto es especialmente valuable en casos donde la concentración de creatinina es muy elevada, como en los pacientes con daño renal crónico, son también altamente sensibles, pues se pueden detectar concentraciones muy pequeñas, el desarrollo de color es estable y además se ha observado que en estos métodos, se dan valores de 2 a 3 mg más bajos que en el de Jaffé sin modificaciones, pues aparentemente estos métodos no son tan susceptibles a las sustancias que interfieren en el método de Jaffé (3), por lo que podemos decir que los métodos enzimáticos son válidos para la determinación de creatinina en suero y en orina (33).

Estos métodos enzimáticos tienen algunas desventajas como son: aproximadamente son 10 veces más caros que el método de Jaffé (59), requiere enzimas altamente puras y en ocasiones en el instructivo de las pruebas, las especificaciones no vienen bien detalladas (33, 59, 72), por lo anterior, estos métodos son usados más como métodos de referencia.

Existen también, otros métodos que han sido utilizados en la evaluación de la función renal, como es el método de HPLC, este método no es utilizado

como método de rutina, pero sí como de referencia, ya que presenta algunas desventajas como son: alto costo del reactivo y del equipo, lo que evita la pronta disponibilidad para usarlo, el procedimiento es laborioso y tedioso por la gran cantidad de muestras que se tienen que trabajar, además de que se ha observado que se eluyen junto con la creatinina otros compuestos (9, 43, 54). Aunque tiene la ventaja de no ser afectado por la turbidez o la hemólisis de las muestras, la bilirrubina en concentraciones menores de 600  $\text{mmol/l}$  no interfieren (42), otras de las ventajas es la gran reducción en el tiempo de separación, además de ser una técnica muy precisa, requiere cantidades de muestra muy pequeñas, la sensibilidad de recuperación es de 90.3 a 100% (56, 42) y su detección mínima límite, es de aproximadamente 0.01  $\text{mmol/l}$ , además de ser un método que presenta una gran linealidad (42, 87, 54).

Otras pruebas utilizadas en la valoración de la función renal, es la depuración de inulina, que constituye la medición más exacta del IFG, su uso rutinario está limitado por las dificultades técnicas y analíticas que ofrece la prueba (85, 90). Para la determinación de la depuración de inulina, se encuentra el método más ampliamente conocido, es el de Antrhione, pero este método está actualmente en desuso, pues el tiempo consumido en la prueba es muy largo, además de sufrir la desventaja de que la glucosa interfiere en la prueba (46, 85, 90), el método no es muy específico y es poco sensible, los reactivos que se utilizan en la prueba son muy tóxicos (93) por lo que ya no se considera apropiado utilizar este método para evaluar el IFG (38), el método de Henrosky es un poco más específico, aunque sufre también la interferencia de la glucosa (46).

Por otra parte, los métodos enzimáticos para la determinación de inulina

se consideran los mejores métodos, ya que se requieren pequeñas cantidades de muestra y la interferencia de la glucosa es mínima, el procedimiento es rápido, específico y altamente sensible, no es muy costoso, por lo que es el método más apropiado para la determinación de la inulina (53, 93, 49, 77).

En la evaluación del FPR, es utilizado el PAH que es determinado por el método de HPLC y el de Varley; el HPLC tiene la ventaja de que se requiere muy poca cantidad de muestra, es rápido y sensible, pero tiene el inconveniente, como en las otras determinaciones, en el que se utiliza como método de referencia (77). El método de Varley es muy laborioso y tiene la desventaja de que en pacientes con hiperglicemia, se reduce el aclaramiento de PAH, pues se ha encontrado que existe una competición fisiológica en el túbulo por la reabsorción de la glucosa y secreción del PAH (82).

Otras de las pruebas que se utilizan para valorar la función renal en pacientes sanos y en pacientes con daño renal, es la determinación de urea; para ello, se han propuesto varios métodos, el método de la Ureasa es de los más utilizados, pero tiene el inconveniente de ser bastante largo, ya que la hidrólisis enzimática de la urea, requiere de 20 a 30 min a 37°C, pero tiene la ventaja de ser muy específico y de ser utilizable en micrométodo, es adaptable a ser automatizado y no es muy costoso (77). El otro método para la determinación de la urea, es el método colorimétrico directo de la Diacetilmonoxima, que es suficientemente específico para las necesidades clínicas, el método es rápido y solo requiere pequeñas cantidades de muestra, pero este método tiene varias desventajas con respecto al método anterior, pues la reacción es fotosensible, lo cual obliga a algunas precauciones para su realización, los reactivos que se utilizan son altamente

corrosivos y tóxicos, tienen una linealidad de hasta 80 mg/dl, por lo que en pacientes con severo daño renal donde la concentración de urea es muy elevada, generalmente se tiene que realizar diluciones (77, 78, 89).

Considerando el análisis anterior, podemos sugerir que como los métodos de uso rutinario para la valoración de la función renal, no poseen una gran sensibilidad, debemos considerar la posibilidad u opción de utilizar los métodos de referencia, que son los que mejores resultados han proporcionado, sobre todo, el método HPLC y los enzimáticos que poseen gran sensibilidad y precisión.

Esto puede ser muy útil, pues se pueden utilizar para validar los métodos que se utilizan comúnmente, y saber hasta qué punto estos métodos que son baratos y de fácil realización, proporcionan resultados confiables. De esta manera, se podría tener un control de calidad con respecto a los métodos utilizados, que aunque resulte caro, sería más confiable.

## RESUMEN

La creatinina como método para evaluar la función renal, no es tan precisa como lo es la inulina, pero sí es un método confiable para realizarlo de rutina en el laboratorio, por la facilidad, disponibilidad y costo de realización. En la actualidad es el método más empleado para la determinación de la función renal, tanto en pacientes sanos como en pacientes donde la función renal está deteriorada.

El aclaramiento de inulina es considerado el método ideal para evaluar la función renal, debido a sus propiedades físicas y fisiológicas, pero no se realiza de rutina en el laboratorio debido a las dificultades que se presentan en su realización.

La diferencia entre el aclaramiento de inulina y la creatinina, se debe principalmente a que la inulina es excretada solamente por filtración glomerular, mientras que la creatinina a altas concentraciones, es eliminada también por secreción tubular.

Los demás métodos que se han mencionado y utilizado para la determinación de la función renal mediante el laboratorio, no son de uso rutinario, debido principalmente al costo, disponibilidad de aparatos y reactivos, sin embargo los métodos basados en HPLC y los enzimáticos, son los que mejor aceptación han tenido debido a su sensibilidad, reproducibilidad y precisión. Pero estos métodos son básicamente de referencia y proporcionan resultados sumamente confiables.

La participación del laboratorio clínico en la evaluación de pacientes con enfermedad renal, es muy importante, ya que las pruebas realizadas para su diagnóstico proporcionan información muy valiosa, por lo que se deben buscar que los métodos utilizados al realizar estas pruebas, sean los que mejores datos proporcionen.

## REFERENCIAS

1. Anderson, R; "Prevention and managent of acute renal failure"; Hospital Practice; 1993;28:(3): 61-75.
2. Apple, F; Bdnt, C; "Creatinine clearance: Enzymatic vs Jaffe de terminations of creatinine in plasma and urine"; Clin Chemic; 1986: 32:(2): 388-390.
3. Apple, F; Benson, P; "Assesment of renal function by iulin clearance: Comparison with creatinine clearance as determined by enzymatics methods"; Clin Chemic; 1989: 35:(2): 312-314.
4. Arlinton, S; "Empleo de liquidos y electrolitos en la clínica"; Asociación Médica del American British - Cowdray; (México) 1979; 18-23, 52-56.
5. Back, S,E; Jungbeg, B,L; "Age dependence of renal function: Clearance of iohexol and p-aminohippurate in healthy males: Scan J. Clin Lab Invest, 1989: 49: 641-646.
6. Balcet, G,A; "Patologia General, Etiología y fisiopatología"; Edi, Toray, S.A. (Barcelona) 1968: 900-902.
7. Bennigton, James, L; El laboratorio en el diagnóstico clínico", Edi. La Prensa Médica Mexicana, (México) 1976: 210-229.
8. Bergstrom, J; "Influence of protein intake on renal hemodynamics and plasma hormona concentracion in normal subjects"; Acta Med Scand, 1985: 217: 189-196.
9. Bjeerve, K, S; "Evaluation of several creatinine methods in search of suitable secondary reference method: report from the subcommitte of reference method for creatinine, Nordic Society for clinical chemistry"; Scan J. Clin Lab Invest: 1988: 48: 365-373.

10. Boschi, S; "High performance liquid chromatography methods for the simultaneous determination of iothalamate and O iodo hippurate"; *Journal of Chromatography*; 1981: 224: 139-143.
11. Bowers, L,D; "Kinetic serum creatinine assay in The role of various factors in determing Specificity"; *Clin Chem*: 1980: 26: (5) 551-555.
12. Bowers, L; Wong, D; Edwart, T; "Kinetic Creatinine assay 11. Acritical evaluation and review", *Clin Chem*: 1980: 26 (5) 556-561.
13. Brancaccio, D; Mineti, A; "Minimal laboratory investigation of uremic patients", *Kidney International*: 1985: 28 suppl (17) s108 - s111.
14. Brener, B; "El riñón", Tomo 1 3a. edi. (Argentina) 1989, 152-178.
15. Brocher, J; "Reability of rutine clerance methods for assessent of glomerular filtration rate in advance renal insuficiency" *Scand J. Clin Lab Invest*, 1981: 41: 91-97.
16. Butler, A; "The chemistry of diacetylmonixime assay of urea influids", *Clin Chm Acta*, 1981: 112: 350-360.
17. Carrie, B,J; "Creatinine: An inadecuate Marker in glomerular disease", *The American Journal of Medicine*, 1980: 69: 177-181.
18. Choi, J; May, R,C; "Mechanims of adaptation to proteinuria in adrimicyn nephrosis", *American Journal of Physicology renal fluid and electrolyte physiology*, 1993 34 (2): F251-F261.
19. Choyke, P,L., Austin H., "Hydrate clearence of godo liniun DTPA as a measurement of glomerular rate". *Kidney International*, 1992: 41: 1595-1598.
20. Christensen, J.S.,: "The renin-angiostensin system and Kidney function during initial insulin treatment in diabectic man", *Scand J Clin Lab Inves*, 1988; 48: 451-456.

21. Cole, B.R., Giangiaco, J., "Measurement of renal function Without urine collection". A critical Evaluation of the constant infusion Technic for Determination of inulin and para-amino hippurate", *The New Englan Journal of Medicine*, 1972: 287 (22) 119, 114.
22. Connors, K.A., "Curso de Análisis Farmacéutico", Edi Reverte, 2a. edi., (España) 1980: 403 445.
23. D'Amico, G., "Effect of vegetarian soy diet on hiper lipidemia in nephrotic syndrome", *The Lancet*, 1992: 8802 (339): 1131-1134.
24. D, Brown., Nesbitt, C., Sinh, H., "Determination of true Creatine by High-performance liquid chromatography Combined With acontinuos-flow Micoanalizyaer", *Clin Chem*, 1977: 23 (7): 1281-1283.
25. D, Kenny., "Astudy of interferences in routina methods for creatinine measurement", *Scand J Clin Lab Invest*, 1993: 53 Suppl: 212: 43-47.
26. Dalmeida, W., N, Suki W., "Measurement of GFR withnon-radio isotopic radio contrast agents", *Kidney International*, 1988: 34: 725-728.
27. Dalton, N, R., "Measurement of urinary para-aminohippuric acids in glycosuric diabetics", *Kidney International*, 1988: 34: 117-120.
28. Daugherthy, N, A., Hammond, K.B., "Bilirubin interference with the Jaffe method for serum creatinine": *Clin Chem* 1978: 24: 392-393.
29. Devaux, G., Crockett, R., "Técnicas de Bioquímica Clínica": Ed jjiims (Barcelona) 1974, 162-177.
30. Drury, M.I., "Diabetes Mellitus"; Ed. Panamericana 2a. edic, (España) 1991, 197-205.
31. Duarte, C.G., "Pruebas de la función renal. Procedimientos y diagnóstico clínico por el laboratorio"; Ed, Salvat Editores, (España) 1983, 1-77.

32. Ellis, E.N., Esteffes, W., "Glomerular filtration Surface in type 1 diabetes mellitus"; *Kidney International*, 1986; 29: 889-894.
33. Fossati, P., Prencipe, L., "Enzymic Creatinine Assay Anew colorimetric Method Based on Hydrogen Peroxide Measurement"; *Clin Chem*, 1983; 29 (8): 1494-1496.
34. Fujita, T., "Enzymatic Rate assay of creatinine in serum and Urine"; *Clin Chem*, 1993; 39 (10): 2130-2136.
35. Giebisch, G., "Methods of localizing transport processes using micropuncture Techniques-evidence for nephron Heterogeneity"; *Inter J Biochem*, 1980; 12: 3-8.
36. Glassokj, R., "Pathophysiology of Acute Glomerulonephritis": *Hospital Practice*, 1988; 15: 163-178.
37. Goldbergr, E., "Síndromes del equilibrio electrolítico agudo y ácido-base"; *Edit Jims (Barcelona)* 1974, 91-127.
38. Grene, A.S., Dalton, N., "Hyperglycemia with and without glycosuria: Effect on inulin and para aminohipprate Clearance"; *Kidney International*, 1987; 32: 886-899.
40. Guyton, A., "Tratado de fisiología Médica"; Ed Interamericana 6a. Edí, (México) 1984; 533-549.
41. Hamburger, J., Crosnier J., "Nefrología"; Edí, Toray (Barcelona) 1982, 1-78.
42. Harmoinen, A., Sillanoukee, P., "Determination of creatinine in serum and urine by Cation-Exchange High-Pressure liquid Chromatography"; *Clin Chem*, 1991; 37: (4) 563-565.

43. Heinegard, D., "Determination of serum creatinine by a direct colorimetric methods"; *Clin Chem Acta*, 1973: 43: 305-310.
44. Hellerstein, S., Berendon, M., "The renal clearance and infusion clearance of inulin are similar, but not identical"; *Kidney International*, 1993: 44: 1058-1061.
45. Henry, R. J., "Química clínica principios y técnicas Tomo 11"; Edit, Jims, (BARCELONA) 1980, 1326-1331.
46. Heyrosusky, A., "A new method for the determination of inulin in plasma and urine"; *Clin Chem Acta*, 1956: 1: 470-474.
47. Jacobsen, B.A., Jensen, B.N., "Parenteral Nutrition including amino acids fail to increase creatinine clearance in catabolic patients"; *Scan J Clin Lab Invest*, 1989: 49 (5-8): 427-430.
48. Jaynes, P., Field, R., "An enzymic reaction-rate assay for serum creatinine with a centrifugal analyser"; *Clin Chem*, 1982: 28 (1): 114-117.
49. Jung, K., "Practical Approach for Determining Glomerular filtration rate by single-injection inulin Clearance"; *Clin Chem*, 1992 38 (3): 403-407.
50. Ketchum, D.F., Ambrose, R. T., "Creatinine Determined by Highperformance liquid chromatography"; *Clin Chem*, 1983: 29 (2): 256-259.
51. Klahr, S., Schrier, G., "The progression of renal disease"; *The New England Journal of Medicine*, 1988: 25: 1657-1665.
52. Kluseck, H., "Diagnóstico Clínico"; Ed. Interamericana: (México) 1987: 389-394.
53. Kuehnle, H. F., Danhl, K.V., "Fully Enzymatic Inulin Determination in small volume samples without Deproteinization"; *Nephron*, 1992: 62: 104-107.

54. Landesman, P.W., Lott J, A., "Determination of creatinine in serum by using creatininase: Enhancement of a commercial Method; Clin Chem, 1983: 29 (11): 2022-2003.
55. Lee, J,A., Lee, H, A., "Uraemia:is urea more important than we think"; The Lancet, 1991: 338: 1438-1440.
56. Levey, A, S., "Creatinine filtration, secretion and excretion during progresive renal disease"; Kidney International, 1989: 36 supl 27: S73-S80.
57. Lim, C, K., Richmond, W., "Towards A definitive assay of creatinine in serum and urine: separation by High-performance liquid chromatography"; Journal of Chromatography, 1978: 145: 41-49.
58. Lynch, M, J., "Métodos de laboratorio" Edi, Interamericana, 2a. edi, (México) 1977: 117-128.
59. Lindback, B., Berman, A., "New method for the enzymatic Determination of creatinine in serum and urine evaluated: Comparison with a kinetic jaffe: Method and isotope dilution-Mass espectrometry"; Clin Chem: 1989: 35 (5): 835-837.
60. Maack, t; "Renal clerance perfusion thechniques "Kidney international; 1986: 30: 142-151.
61. Malcon, M,G; Validation of inulin as marker for glomerular filtration in pretem babies"; Kidney international; 1983: 23: 407-409.
62. Márquez Santos J,S; "Evaluación y correlación clínico laboratorio en pacientes con insuficiencia renal crónica"; 1990 (México) 1-15.
63. Maxwell, M, H: "Clínica de los transtornos hidroelectrolíticos"; Edi, Toray (España) 1978: 99-111, 287-300.

64. Mazur, A; Harrow, B; "Bioquímica Básica": Edit, Interamericana 10a. Edi, (México) 1971: 539-547.
65. McGehee, H; "Tratado de medicina interna"; Tomo 1, Edi, Interamericana 21a. Edi, (México) 1988: 128-138.
66. Moss, A, G; Bondar, J, L; "Kinetic enzymatic method for determinig serum creatinine; Clin Chem; 1975: 21 (10): 1422-1426.
67. Muirhead, N; "Equilibrio de líquidos y electrolitos"; Edi, El manual moderno: (México) 1989: 49-70.
68. Narayanan, S; "Creatinine: Areview": Clin Chem; 1980: 26 (8): 1119-1126.
69. Nicoll, S, R; Sainsbury, R; "Assessment of creatinine clearance in healthy subjects over 65 years of age"; Nephron; 1991: 59: 621-625.
70. Odlin, Bo; Hallgren, R; "Is  $^{125}$  Iothalamate and ideal marker for glomerular filtration"; Kidney International; 1985: 27: 9-16.
71. Papper, S; "Nefrología clínica"; Edi, Salvat, Salvat, 2a. Edi, (España) 1982: 48-71.
72. Pesce, J,; "Química clínica Edi, Panamericana (Argentina) 1987: 24-35.
73. Richet, G; "Edema and uremia from 1827 to 1905: The first faltering steps of renal pathophysiology"; Kidney International; 1993: 43 1385-1396.
74. Pitts, F, R; "Fisiología del riñón y líquidos corporales"; Edi, Interamericana, 2a. Edi, (México) 1969: 1-41.
75. Prueksartanot, T; "Simple and microhig-performance liquid chromatographic for simultaneus determination of p-aminohippuric acid-iothalamate in biologicals fluids"; Journal of Chromatography; 1984: 306: 89-97.

76. Rodo, J, E; "Insuficiencia renal Aguda"; Edi, Universitaria de Buenos Aires, 1967: 389-410.
77. Rose, A; "Measurement of glomerular filtration rate by inulin clearance without urine collection"; British Medical Journal; 1969: 2: 91-93.
78. Rosenbaum, R, W; "Inulin: An inadequate marker of glomerular filtration rate in kidney donors and transplant recipients"; Kidney International: 1979: 16: 179-186.
79. Schaposnick, F; "Medicina interna "Tomo 11; Edi, Troque (Buenos Aires) 1980: 1349-1455.
80. Schawartz, A; "Structure function and regulation of Na-K-ATPase Int J. Biochem; 1980: 12: 287-293.
81. Schettler, G; "Medicina Interna" Tomo 1; Edi, Salvat 2a. Edi, (España) 1984: 248-279.
82. Schumann, I; Wustenberg, W, P; "Determination of glomerular filtration rate (GFR) on two consecutive days using inulin in a single-sample plasma clearance method"; Clin Nephrology; 1993: 39 (2): 65-69.
83. Schumann, L; Wustenberg, P, W; "An improved method determine renal function using inulin p-aminihippurate (PAH) steady-state kinetic modeling"; Clin Nephrology; 1990: 33: (1): 35-40.
84. Shoucri, M, R; "Some observations on the kinetics of jaffe reaction for creatinine"; Clin Chem; 1977: 23 (9): 1527-1530.
85. Skou, E, P; "Glomerular filtration rate in patients with severe and very severe renal insufficiency"; Acta Med Scand, 1970: 187: 419-428.
86. Smith, C; Landt, M; "The Kodack Ektachem 400 analyzer evaluated for automated enzymic determination of plasma creatinine"; Clin Chem, 1983: 29: (11): 1422-1425.

87. Soldin, S; Esteven, H, J; "Micromethod for determination of creatine in biological fluids by high-performance liquid chromatography"; Clin Chem, 1979: 24: (5): 747-750.
88. Soldin, S, J; Henderso, L; "The effect of bilirubin and ketones on reaction rate methods for measurement of creatinine"; Clin Biochem; 1978: 11: 82-86.
89. Sonnewirth, A; "Diagnóstico clínico"; Edi. Médica Panamericana (Argentina) 1983: 459-468.
90. Stamp, T, C, B; "Comparison of glomerular filtration rate measurement using inulin Cr EDTA, and a phosphate infusion technique"; Clin Chem Acta: 1970: 30: 351-358.
91. Stein, Y, H; "Nefrología"; Edi, el Ateneo, 5° Edi, (Argentina) 1984: 81-181.
92. Stouton, W, E; Todd, R, W; "Bioquímica Médica"; Edi, Interamericana, 4° Edi, (México) 1969: 186-187.
93. Summerfield, A; Hortin, G; "Automatized enzymatic analysis of inulin"; Clin Chem; 1993: 39: (11): 2333-2337.
94. Tanganelli, E; Princepe, L; "Enzymic assay of creatinine in serum and urine with creatinine iminohidrolase and glutamate dehydrogenase"; Clin Chem, 1982: 28 (7) 1461-1464.
95. Taylor, B, R; "Medicina de familia principios y prácticas"; Edi, Doyma, 3° Edi, (España) 1991: 292-306.
96. Tietz, W, N; "Química clínica moderna"; Edi, Interamericana, (México) 1972: 697-712.

97. Tortora, J, G; Anagnostakos, P, N; "Principios de anatomía y fisiología"; Edi, Harla, 3° Edi, (México) 1981: 820-848.
98. Touchars Sánchez A; "Nefrología y vías urinarias"; Edi, Luzcan, 2° Edi, (España) 1984: 10-21.
99. Treviño, A; "Indicaciones de la diálisis peritoneal en la insuficiencia renal crónica"; Edi, La Prensa Médica Mexicana (México) 1984: 1-11.
100. Vander, J, A; "Renal Physiology"; Edi, MacGraw-Hill (USA) 1975: 1-28.
101. Walser, M; "Prediction of glomerular filtration rate from serum creatinine concentration in advanced chronic renal failure"; *Kidney International*, 1993: 44: 1145-1148.
102. Withe, A; "Principios de Bioquímica"; Edi, McGraw-Hill, 6° Edi, (España) 1982: 1122-1143.
103. Witworth, J, A; "Enfermedades Renales"; Edi, El Manual Moderno, (México) 1990: 1-49.
104. Winchester, F, J; Champman, B, A; "Effect of dietary constituents on renal function"; *Kidney International*, 1989: 36: supl 27s 68s 72.
105. Yap, A, P; "Single subcutaneous injection of Iothalamate Sodium 1125 to measure glomerular filtration rate"; *Jama*: 1976: 235: (14) 1467-1469.