



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE MEDICINA
DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO

INSTITUTO NACIONAL DE CARDIOLOGÍA
IGNACIO CHÁVEZ



DEPARTAMENTO DE NEFROLOGÍA

**“CORRELACIÓN DE LA PRUEBA DE ESTRÉS RENAL
CON FUROSEMIDE Y LA PRESENCIA DE FIBROSIS
INTERSTICIAL / ATROFIA TUBULAR EN BIOPSIAS
RENALES DE PACIENTES CON ENFERMEDAD RENAL
CRÓNICA”**

TESIS DE POSGRADO
PARA OBTENER EL TÍTULO DE ESPECIALISTA EN:

NEFROLOGÍA

P R E S E N T A

DR. JESÚS ARTURO RIVERO MARTÍNEZ

TUTOR DE TESIS:

DRA. MAGDALENA MADERO ROVALO

DR. FRANCISCO EUGENIO RODRIGUEZ CASTELLANOS

TLALPAN, CIUDAD DE MÉXICO, 2017



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



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.




Dr. Juan Verdejo Paris


Director de Enseñanza


Instituto Nacional de Cardiología Ignacio Chávez


Dra. Magdalena Madero Rovalo

Jefe del departamento de Nefrología

Instituto Nacional de Cardiología Ignacio Chávez


Dr. Francisco Eugenio Rodríguez Castellanos
Médico Adscrito del departamento de Nefrología
Instituto Nacional de Cardiología Ignacio Chávez


Dr. Jesús Arturo Rivera Martínez
Médico Residente de tercer año de Nefrología
Instituto Nacional de Cardiología Ignacio Chávez

AGRADECIMIENTOS

Agradezco a mi familia por ser lo más importante y valioso que tengo.

A mis amigos y maestros.

Y a mis pacientes...

“Vive como si fueras a morir mañana y aprende como si fueras a vivir para siempre”.

M. Gandhi.

INDICE

• Resumen.....	5
• Antecedentes.....	6
• Justificación.....	14
• Hipotesis.....	14
• Objetivos.....	15
• Material y Métodos	20
• Análisis Estadístico.....	22
• Resultados.....	23
• Discusión.....	31
• Conclusiones.....	33
• Referencias Bibliográficas.....	34

RESUMEN

Título: Correlación de la prueba de estrés renal con furosemide y la presencia de fibrosis intersticial / atrofia tubular en biopsias renales de pacientes con enfermedad renal crónica

Introducción: Uno de los cambios observados en pacientes con enfermedad renal crónica (ERC) es el desarrollo de fibrosis intersticial/atrofia tubular (IFTA) y de acuerdo al grado en que se encuentren representan un importante factor pronóstico de la función renal, sin embargo cuenta con la limitante de requerir para su evaluación la realización de biopsia renal. La prueba de estrés con furosemida (FST) recientemente se convirtió en una herramienta estandarizada para su uso en lesión renal aguda, permitiendo la evaluación en tiempo real la reserva y función renal. En la actualidad se desconoce su utilidad en pacientes crónicos y su correlación con la identificación de IFTA en la biopsia renal.

Materiales y Métodos: Se realizó un estudio observacional de tipo transversal, que incluyó 78 pacientes hospitalizados (34 hombres y 45 mujeres), con diagnóstico de ERC y que durante su abordaje fueron sometidos a biopsia renal percutánea. En todos ellos se realizó la prueba de estrés con furosemida, correlacionando la producción de uresis con los hallazgos de IFTA en la biopsia.

Resultados: Los grados de fibrosis en esta población fueron predominante grado 1 y 2 ocupando aproximadamente en un 83%. La prueba de estrés con furosemida resultó encontrarse correlacionada significativamente con los grados de fibrosis especialmente en la primera y segunda hora con un coeficiente de correlación de -0.291 ($p=0.013$) y -0.104 ($p=0.018$) respectivamente. No se encontró una correlación significativa para los diferentes marcadores empleados, más que para albumina, BUN y Creatinina.

Conclusiones: La uresis generada a través de la prueba de estrés con furosemida en pacientes con enfermedad renal crónica, si tiene correlación con la presencia de fibrosis intersticial y atrofia tubular identificadas por biopsia renal, especialmente en la primera hora, lo que sugiere que la FST una herramienta menos invasiva que la biopsia renal con potencial capacidad de evaluar de forma indirecta la integridad de la función del tubulointersticio y que su respuesta pudiera correlacionarse con los grados de fibrosis y consecuentemente con el pronóstico de estos pacientes. Con excepción del BUN y creatinina, Ninguno de los otros factores reflejaron correlación con la presencia de fibrosis.

ANTECEDENTES.

Actualmente la enfermedad renal crónica (ERC), particularmente en etapas avanzadas, es considerada como uno de los más serios y prioritarios problemas de salud pública a nivel mundial.^{1,2} La prevalencia de enfermedad renal en etapa terminal se ha incrementado globalmente en las últimas 2 décadas, principalmente como consecuencia del incremento de la diabetes mellitus (DM) y el envejecimiento poblacional.³ Los datos más recientes sobre mortalidad, son los publicados en 2015 en el Estudio Global de Carga de Enfermedades, donde se reportó el lugar que ocupa la ERC en el ranking de las causas de mortalidad de 1990 y 2013, posicionándose en los lugares 36^o y 19^o respectivamente.⁴

El impacto económico que genera la atención de enfermos bajo esta condición es exorbitante. En este sentido en Estados Unidos de Norteamérica (EUA) en el 2013 se estimó que el gasto per cápita como resultado de la atención ambulatoria como intrahospitalaria de estos pacientes asciende aproximadamente de \$ 32,922 a 87,945 dólares al año.⁵ Esto en consecuencia, pone de manifiesto un panorama sombrío para países en vías de desarrollo, afectando especialmente a aquellos pacientes que no cuentan con seguridad social.

En México se carece de una base de datos a nivel nacional, es por ello que los datos más recientes sobre la prevalencia con que se cuenta, son los reportados por investigaciones realizadas en pacientes del Instituto Mexicano del Seguro Social (IMSS), reportándose que alcanza un 14.7%.⁶ Desafortunadamente este problema se acentúa cada vez más, debido a que como se mencionó previamente

somos un país con alta prevalencia de obesidad, diabetes e hipertensión y una tendencia a ser una población envejecida, lo que condiciona que actualmente exista una gran cantidad de pacientes con daño renal en etapas avanzadas que optan por iniciar terapia de soporte renal ya sea mediante diálisis peritoneal y/o Hemodiálisis, cuando el trasplante renal no es una opción accesible a corto plazo.

Con el pasar de los años, el conocimiento científico en el área nefrológica, ha permitido describir con claridad el papel anatómico-funcional de la nefrona, identificándose la capacidad de realizar una gran cantidad de tareas, que resultan cruciales en la homeostasis del cuerpo humano, como lo son: *Funciones de transporte* (balance electrolítico, manejo de volumen, ácido base, osmolaridad, reabsorción proteica), *Función metabólica* (gluconeogénesis) y *Función Hormonal* (vitamina D, eritropoyesis, presión arterial), entre otras.⁷ Anatómicamente la nefrona está constituida por 4 principales elementos: glomérulo (mesangio, podocitos), túbulo, intersticio y vasculatura.⁸ Un dato relevante a considerar, es que en conjunto el tubulointersticio constituye aproximadamente el 80% de la masa renal y es por lo tanto, más que un complejo sistema de soporte de las estructuras mencionadas.⁹⁻¹¹

Más aun un aspecto peculiar de este sistema tubulointersticial, es la capacidad de autoreparación ante un insulto agudo, por diferentes mecanismos como los son la resolución de infiltrado inflamatorio, proliferación tubular, cambios en los macrófagos, reparación endotelial,¹²⁻¹⁵ sin embargo en pacientes en quienes el insulto renal se perpetúa, se activan diferentes mecanismos (daño tubular, activación endotelial, obstrucción tubular, reclutamiento leucocitario y daño

vascular), que a su vez condicionan que se vea superada la capacidad de recuperación y se genera un desbalance, donde el resultado final es la presencia de “*fibrosis*”.¹⁶⁻¹⁸

Los tres cambios histológicos donde se pone de manifiesto la fibrosis a nivel renal, es mediante la aparición de glomeruloesclerosis, esclerosis vascular, atrofia tubular y fibrosis tubulointersticial (IFTA),^{16,17} observándose un cambio anómalo en las vías de señalización, con la participación de diferentes mediadores, generándose un cambio de la estructura tubular normal por miofibroblastos y elementos de la matriz extracelular.^{13,19} Se ha establecido una clasificación histológica de fibrosis en tres grados: Leve (<25%), moderada (25-50%) y severa (>50%).^{16,17}

Estudios realizados en pacientes sometidos a trasplante renal, sugieren que IFTA está fuertemente implicada con falla del injerto, progresión, mal pronóstico e incremento de la mortalidad.²⁰⁻²² Además se acepta que en este grupo de pacientes la lesión tubulointersticial es un hallazgo invariante en el riñón crónicamente enfermo, independientemente del tipo de la enfermedad o el compartimento en el que se origina la misma.¹⁵ Y al igual que en riñones nativos enfermos, la fibrosis en los pacientes trasplantados es impulsado por lesión de la nefrona y la progresión a la insuficiencia refleja una lesión continua y no una fibrogénesis autónoma.²¹ Con la finalidad de encontrar opciones de manejo, estudios recientes se han dado a la tarea de buscar potenciales tratamientos antifibroticos.²³

Hoy día para el seguimiento y monitoreo de la progresión de la enfermedad, se ha identificado como elementos clínicos clave a los factores tradicionales de riesgo cardiovascular, la función renal residual y el tiempo libre de diálisis. Históricamente la urea fue el primer marcador utilizado formalmente para evaluar la función renal.²⁴ Años más tarde fue sustituida por la creatinina, convirtiéndose hasta la fecha en una de las herramientas estandarizadas tradicionales de la función renal,²⁵ mediante la evaluación de la tasa de filtrado glomerular (TFG), ya sea con su medición directa, mediante marcadores endógenos y exógenos,^{26,27} o bien estimada con las diversas fórmulas matemáticas existentes (Ecuación de Cockroft-Gault, MDRD, CKD-EPI),²⁸⁻³⁸ sin embargo como se explicó con antelación, los riñones tienen muchas funciones más allá de la filtración, por lo que se ha debatido acerca del hecho, de que dichos métodos de evaluación no muestran una correlación exacta de la función renal ni tampoco del pronóstico renal. A pesar de su amplio uso en la práctica clínica, se puede decir entonces, que la TFG es una “herramienta incompleta”, pues su análisis no traduce con certeza el estado real de la arquitectura renal (especialmente del tubulointersticio) y su repercusión funcional en cada estadio de la enfermedad.

En el pasado pruebas funcionales como la capacidad de dilución, concentración^{27,40} y acidificación urinaria,⁴⁰⁻⁴² así como algunos índices como la fracción excretada de sodio y urea (FENA y FEBUN),⁴³⁻⁴⁵ los cuales han sido utilizados para evaluar la función renal, más allá de las condiciones basales. La facultad de incrementar la capacidad funcional renal basal para responder y adaptarse a las demandas incrementadas, es que surgió el concepto de “*Reserva funcional*”

renal”,^{46,47} que se define como la diferencia entre la capacidad funcional máxima y la función basal, pudiendo ser evaluada tanto a nivel glomerular como tubular.⁴⁸ dando pauta, a que estas pruebas pueden representar una excelente posibilidad diagnóstica de enfermedad subclínica o la pérdida silente de la masa de nefronas.^{49,50} Sin embargo ante la continua limitante de contar con un método capaz de predecir un pronóstico es que actualmente, se está estudiando alrededor de 40 diferentes enzimas diferentes en la orina, con diferentes orígenes (riñones, epitelio y glándulas del tracto urinario, el plasma y las células sanguíneas), mismas que con su actividad pudieran ser el reflejo de la presencia de diversas enfermedades y de la capacidad funcional residual del riñón.⁵¹ Indudablemente en este sentido la biopsia renal, juega un papel fundamental en este contexto, pues con ella es posible generar no solo un diagnóstico etiopatogénico, sino que además su correcta interpretación suele dar información sobre el (los) mecanismo (s) probable (s) de lesión, así como severidad, actividad, cronicidad y/o reversibilidad potencial de cambios patológicos que están presentes, los cuales en conjunto son de utilidad para la toma de decisiones clínicas y establecer un pronóstico,⁵²⁻⁵⁶ tanto de riñones nativos, como sucede con la clasificación de Oxford (acrónimo MEST), validado para su uso en nefropatía por IgA.⁵⁷ como para injertos renales en la clasificación histopatológica de rechazo derivada del consenso de Banff, en su última actualización,^{58,59} sin embargo tiene la limitante de que es un procedimiento altamente invasivo y se requiere de la interpretación por un nefropatólogo experimentado.

Con este conocimiento, en los últimos años se ha incrementado el interés sobre los mecanismos involucrados en el desarrollo de IFTA, así como diversos métodos para su evaluación. En primer lugar se han propuesto que existen 4 etapas en la génesis de IFTA: *Susceptibilidad, Iniciación, progresión y aparición de IFTA*, cada uno con diferentes mecanismos fisiopatológicos interrelacionados. Y en segundo lugar ya se conocen algunos biomarcadores de Fibrosis como el factor de crecimiento transformante $\beta 1$ (TGF- $\beta 1$) y la proteína morfogenética de hueso-7 (BMP-7), sin embargo su utilidad en la práctica clínica es limitada debido a que se modifican en pacientes con función renal disminuida.^{60,61} Gracias a la biología molecular y microarreglos hay resultados preliminares acerca de nuevos biomarcadores como el receptor celular 1 del virus de la hepatitis A (también conocido como molécula de daño renal 1, KIM-1), lipocalina 2 (también conocido como gelatinasa de neutrófilo asociada a lipocalina, NGAL), SRY- caja 9 (SOX-9), Proteína del dominio central de cuatro disulfuros WAP-2 (WFDC2), y NK6 Cajas homeóticas 2 (NKX6-2), que son expresados diferencialmente en ERC. Sus niveles de expresión están correlacionados con la extensión de la fibrosis tubulointersticial y la lesión de las células tubulares, corroborado por el examen histopatológico.⁶²

Con estos hallazgos, diversos autores han sugerido la necesidad de llevar a cabo la evaluación funcional de estas estructuras en tiempo real, como medidas complementarias a la TFG para evaluar específicamente la función tubular.

Una de ellas es la prueba de estrés con furosemida (FTS), la cual retoma un concepto descrito desde 1973 por Baek y cols.⁶³ quienes se dieron a la tarea de

evaluar a 15 pacientes que clínicamente no cursaban con lesión renal aguda (AKI), encontrando que valores del aclaramiento de agua libre cercanos a cero y una pobre respuesta al reto con furosemida eran “señales inminentes” de lesión renal aguda. Con el paso del tiempo los clínicos han utilizado el uso de reto con furosemida en pacientes con AKI oligúrica convirtiéndose en una práctica habitual, sin embargo hasta hace poco se carecía de una estandarización para llevar a cabo una evaluación temprana, ni tampoco puntos de corte apropiados que permitieran guiar el manejo en estos pacientes. Estas observaciones permitieron que en fechas recientes se propusiera a la FST como un método para evaluar la integridad de la maquinaria tubular mediante la evaluación de la secreción tubular con la administración de furosemida intravenosa.⁶⁴ Se eligió a furosemida, debido ser un fármaco que cuenta con características farmacocinéticas peculiares, como el hecho de que se filtra libremente por el glomérulo y se elimina exclusivamente mediante secreción en el túbulo proximal;^{65,66} luego entonces, la medición de la cantidad del fármaco secretado en la orina después de un bolo intravenoso, podría permitir la separación de la respuesta del gasto urinario de la función tubular proximal, resultando en una efectiva prueba de esfuerzo tubular renal. En 2013 la prueba fue evaluada por Chawla y Cols⁶⁴ en una cohorte prospectiva de pacientes críticamente enfermos con AKI, mostrando un excelente rendimiento diagnóstico. En este estudio se estableció la dosis estándar de furosemida intravenosa (1 mg/kg en pacientes que no habían sido expuestos a diurético de asa en los 7 días previos y 1.5 mg/kg en aquellos expuestos) y se administró a los pacientes críticamente enfermos con AKI en etapa I o II (según la clasificación de KDIGO) y después se evaluó la

respuesta en el gasto urinario. Una uresis menor a 100 ml/h a las 2 horas luego del reto diurético, predijo la progresión a KDIGO etapa III dentro de 14 días con un área bajo el Curva (AUC) de 0,87 (SE 0,05). Más aun en un corte de 200 ml a las 2 h, la sensibilidad y especificidad del FST se consideró de 87,1 y 84,1%, respectivamente. Más aún una segunda evaluación de la prueba fue al compararse la respuesta en pacientes con biomarcadores de AKI (TIMP- 2/IGFBP-7)) elevados.⁶⁷ En el subgrupo de pacientes con AKI y biomarcadores altos, el desempeño del FST mejoró aún más (AUC = 0,90). Esta información cobra relevancia ya que estos resultados son similares a la forma en que se utiliza la prueba de estrés en pacientes con enfermedad cardiaca (troponina), estos datos sugieren que la combinación de los biomarcadores de la AKI junto con la FST generan información útil que pueden ser de gran ayuda para los clínicos al momento de evaluar la gravedad de AKI. El interés de la prueba cada día está creciendo fuera del terreno de AKI, sospechándose por algunos autores su potencial capacidad para predecir la progresión de la Enfermedad renal crónica terminal (ERCT). La importancia del conocimiento de esta aseveración se vuelve es una pregunta clínica de gran impacto que dilucidarla permitiría a los clínicos a preparar a los pacientes para la terapia de soporte renal (diálisis). En este sentido y en los pacientes óptimos esta capacidad pronóstica inclusive podría ser un factor que permitiría realizar o evitar la colocación innecesaria de un acceso vascular permanente como es el caso de la fístula arteriovenosa. Finalmente los resultados pueden extrapolarse a pacientes con trasplantes de renal en la evaluación pronóstica retraso de la función del aloinjerto y probablemente sobrevida a largo plazo.

JUSTIFICACIÓN

Las pruebas con que contamos para llevar a cabo la evaluación de la función renal son consideradas herramientas útiles, pero inexactas e incompletas. En la actualidad existen métodos no invasivos y fácilmente reproducibles para el estudio de la función de la nefrona, que van más allá de la filtración glomerular. La prueba de estrés con furosemida (FST) es un test que retoma un concepto antiguo conocido por los clínicos, sin embargo se ha convertido en un test novedoso, en virtud de que permite la evaluación de la integridad tubular y se encuentra estandarizado su uso en pacientes con daño renal agudo, sin embargo su papel en pacientes con ERC aún se desconoce.

Consideramos que la FST es una ventana de oportunidad ya que pudiera ser una herramienta que potencialmente nos permita mediante la producción de uresis predecir los cambios histopatológicos especialmente la presencia de fibrosis intersticial / atrofia tubular, tomando en cuenta que es una maniobra no invasiva, sencilla, reproducible y de bajo costo para la evaluación de la función renal de pacientes.

HIPOTESIS

Hipótesis Nula: La producción de orina generada durante la prueba de estrés con furosemida no predice, de manera inversamente proporcional, los hallazgos de la atrofia tubular y fibrosis intersticial encontrados en las biopsias de pacientes con enfermedad renal crónica.

Hipótesis Alterna: La producción de orina generada durante la prueba de estrés con furosemida predice, de manera inversamente proporcional, los hallazgos de la atrofia tubular y fibrosis intersticial encontrados en las biopsias de pacientes con enfermedad renal crónica.

OBJETIVOS

Objetivo General: Evaluar la producción de orina durante la prueba de estrés con furosemida, como un método para conocer el grado de atrofia tubular y fibrosis intersticial renal documentado mediante revisión histopatológica.

Objetivos particulares:

1. Correlacionar la producción de uresis generada durante la prueba de estrés renal con furosemida, con el grado de fibrosis intersticial, en biopsias renales de pacientes con enfermedad renal crónica.
2. Comparar la producción de uresis con generada durante la prueba de estrés renal con furosemida, así como la fibrosis intersticial en biopsias renales, acorde a los distintos estadios de la enfermedad renal crónica.
3. Describir la producción de uresis con generada durante la prueba de estrés renal con furosemida acorde a la tasa de filtrado glomerular estimada por el método de CKD-EPI
4. Identificar potenciales parámetros bioquímicos séricos para predecir la producción de uresis en respuesta a la prueba de estrés renal con furosemida

5. Describir potenciales parámetros bioquímicos séricos para predecir la presencia de fibrosis intersticial en biopsias de pacientes con enfermedad renal crónica

MATERIAL Y METODOS

Estudio de tipo transversal, descriptivo, que incluyo a todos los pacientes adultos (mayores de 18 años) que aceptaran participar y que cursaran con diagnóstico de enfermedad renal crónica, hospitalizados en el servicio de Nefrología del Instituto Nacional de Cardiología “Dr. Ignacio Chávez” y que en su abordaje fueran sometidos a biopsia renal percutánea. La definición de enfermedad renal crónica fue basada en las recomendaciones de las Guías internacionales *Kidney Disease Improving Global Outcomes (KDIGO)* en su última actualización en 2012.

Se excluyeron a pacientes con enfermedad renal crónica en estadio KDIGO 5, pacientes en terapia de reemplazo renal aguda, aquellos con contraindicación alguna para la biopsia renal, cualquier tipo de reacción alérgica conocida a la furosemida y mujeres embarazadas.

Después de explicar ampliamente de forma verbal las características del estudio y realizar la invitación, se procedió a llevar a cabo la firma del consentimiento informado.

Prueba de estrés con Furosemida (FST): Previo al inicio de la prueba se llevó a cabo canalización del paciente mediante una vía de acceso venoso periférico (para aquellos que no contaran con dicho acceso). Seguido de la obtención de

aproximadamente 5 mL de sangre venosa y una muestra de orina de aproximadamente 5 mL (basales). Se solicitó al paciente realizar micción completa, asegurando vaciamiento vesical mediante su corroboración mediante la medición de volumen vesical mediante ultrasonido vesical a pie de cama (en pacientes con vaciamiento incompleto se estimó el volumen residual y se registró). Después se procedió a la administración de Furosemida intravenosa a dosis de 1 mg/kg para pacientes vírgenes a tratamiento o uso mayor a 14 días y de 1.5 mg/kg para uso crónico o menor a 14 días, Subsecuentemente se recolectaron las micciones y totalidad de la uresis producida cada hora, durante las 6 horas posteriores a la administración del fármaco. La totalidad de la prueba fue segmentada en 3 periodos (2 horas por cada periodo), en cada uno de ellos se resguardo en ultracongelación (temperatura -10°C) un volumen de 10 mL de orina, así como una muestra combinada de la totalidad de los segmentos. La reposición del volumen de uresis fue 1:1 de la cantidad miccionada por el paciente durante cada hora de la prueba, con solución salina al 0.9% y/o vía oral, sin embargo la decisión de reposición o abstención quedo a criterio del equipo médico tratante del paciente. Los datos de la FST fueron capturados en la hoja de recolección de datos. Igualmente se obtuvo copia del reporte histopatológico final de la Biopsia renal con la descripción estandarizada de los hallazgos glomerulares, tubulares, intersticiales y de vasculatura del espécimen enviado. Posteriormente fue vaciada la información a la base de datos (programa Excel de Microsoft para Windows 2016®) para finalmente realizar su análisis con el paquete estadístico.

ANÁLISIS ESTADÍSTICO

En virtud de la distribución no normal de la población se optó por la realización del análisis de la información mediante medianas y rangos intercuartílicos como medidas de tendencia central para la descripción de las variables. En cuanto a la correlación entre las variables estudiadas se optó por realizar la Prueba de Pearson. Para comparaciones entre grupos se llevó a cabo prueba de ANOVA de dos vías y para diferencias entre grupos relacionados se utilizó prueba de Mann-Whitney. Se empleó agrupación óptima para determinar el punto de corte específico en base al cual llevar a cabo la segmentación de los grupos. Posterior a esto se realizó árbol de decisión para buscar las variables de mayor peso pronóstico para fibrosis. Finalmente se implementó regresión logística y regresión lineal para establecer potencial asociación.

RESULTADOS

A continuación se enuncian las tablas de resultados con un total de 78 pacientes (34 hombres y 45 mujeres).

Tabla 1. Características generales del total de pacientes}

Variable	Mediana IQR (25-75)	Rango
<i>Clínicas</i>		
Edad (años)	37.5 (25-45)	17-74
Peso (kg)	66.8 (57-75)	45-125
Talla (m ²)	1.60 (1.55-1.66)	1.45-1.81
Fibrosis Subjetiva(%)	20 (12.5-35.5)	0-50
<i>Bioquímicos</i>		
Hemoglobina	11.8 (10.4-13.7)	5.2-17.9
Hematocrito	36.4 (31.4-42.5)	15.9-55.8
Leucocitos	7.450 (5.775-9.225)	9000-12000
Colesterol Total (mg/dl)	186.2 (259-237)	93-491
Colesterol HDL (mg/dl)	45.6 (39-55)	27-107
Creatinina (mg /dl)	1.49 (0.99-2.4)	0.4-9.8
Nitrógeno Ureico (mg/dl)	30.2 (19-39)	6.7-101
Sodio (mg/dl)	139 (136-141)	124-146
Potasio (mg/dl)	4.3 (4-4.6)	2.9-6
Cloro (mg/dl)	106 (103-109)	11-116
Calcio (mg/dl)	8.7 (8.2-9.1)	6.5-10.1
Fosforo (mg/dl)	4.3 (3.7-5)	2.8-7.7
Albumina (g/dL)	3.35 (2.6-3.9)	1.03-4.8
Ácido Úrico (mg/dl)	6.6 (5.5-7.7)	3.4-7.8
<i>Examen de Orina</i>		

pH	6 (5-6.5)	5-7
Gravedad Especifica	1.015 (1.010-1.015)	1.01-1.04
Índice Proteinuria / Creatinuria (g/g)	1.36 (0.43-5)	0.04-16.5

Tabla 2. Longitudes y volúmenes de riñones nativos e injerto renal

Variable	Mediana (IQR 25-75)	Rango
<i>Riñón derecho /injerto</i>		
Diámetro Longitudinal (n=72)	10.3 (9.1-11.3)	7.6-13.7
Diámetro Oblicuo (n=72)	5.2 (4.7-5.7)	3.7-7-5
Diámetro Transversal	5 (4.5-5.5)	3-8
Volumen (cm ³)	141.2 (110-168)	52-326
<i>Riñón izquierdo</i>		
Diámetro Longitudinal (n=48)	10.2 (9.4-11-3)	7.5-12.9
Diámetro Oblicuo (N=48)	5.1 (4.7-5-5)	2.9-8.8
Diámetro Transversal	4.8 (4.2-5.2)	3.3-6-7
Volumen (cm ³)	131.1 (103.3-172)	60.6-383.2

Tabla 3. Características de uresis horarias del total de pacientes

Variable	Mediana IQR (25-75)	Rango
Uresis Hora 1 (%) n= 78	230 (28.6-412)	-371-1168
Uresis Hora 2 (%) n= 78	362 (166-500)	0-1200
Uresis Hora 3 (%) n= 78	240 (0-402)	0-1500
Uresis Hora 4 (%) n= 76	230 (55-367)	0-805
Uresis Hora 5 (%) n= 78	90 (0-272)	0-550
Uresis Hora 6 (%) n= 78	200 (0-302)	0-700
Uresis Total (%) n= 78	1272 (931-1905)	130-4538

Tabla 4. Distribución de las variables por género

Variable	Hombres Promedio ± DS	Mujeres Promedio ± DS	Significancia
Edad	40.5 ± 16.1	36 ± 14	NS
Peso	72.4 ± 18.7	64.5 ± 10.1	0.03
Fibrosis	23.9 ± 14.9	24.1 ± 16.7	NS
Albumina	3.2 ± 0.9	3.2 ± 0.8	0.03
BUN	35.4 ± 17.3	32.2 ± 22.4	NS
Calcio	8.7 ± 0.74	8.5 ± 0.74	NS
Creatinina	2.5 ± 2.2	1.7 ± 1.5	NS
Fosforo	4.3 ± 1	4.5 ± 0.8	NS
Ácido Úrico	7.0 ± 2.0	6.7± 1.7	NS
Colesterol total	177.8 ± 50.9	218 ±72.9	0.08
Hb	12.6 ± 2.4	11.5 ± 2.7	0.07
Longitud RI	10.7 ± 1.1	10.0 ± 1.3	0.05
Transverso RI	5.3 0.78	4.5 ± 0.6	0.01
Volumen RI	172.9 ± 72.5	121 ± 39.1	0.013
Volumen RD/Injerto	166.4 ± 64.6	132 ±40.8	0.014

Tabla 5. Distribución de comorbilidades por género

Variable	Hombres	Mujeres	Significancia
Nefropatía crónica del injerto n = 10 (%)	6 (17.6)	4 (9.1)	.317
Síndrome Hematuria Proteinuria n= 1 (%)	0 (0)	1 (2.3%)	1.00
Deterioro de la función renal en estudio n= 1 (%)	20 (58.8)	24 (54.5)	0.81
Nefropatía Lupica n= 1 (%)	18 (52.9)	17 (38.6)	0.254
Síndrome Nefrótico n= 1 (%)	4 (11.8)	18 (40.9)	0.05
Síndrome Nefrítico n= 1 (%)	33 (97.1)	42 (95.5)	1.00
Vasculitis n= 1 (%)	3 (8.8)	2 (4.5)	0.64
Nefropatía IgA n= 1 (%)	2 (5.9)	1 (2.3)	0.57
Proteinuria subnefrotica n= 1 (%)	1 (2.9)	3 (6.8)	0.62
GMN Cambios minimos n= 1 (%)	0 (0)	5 (11.4)	0.65
Nefropatía membranosa n= 1 (%)	0 (0)	2 (4.5)	0.50

Con respecto al reporte histopatológico, se categorizaron de forma porcentual de acuerdo a los hallazgos subjetivos obtenidos por la biopsia en tres grupos. Considerando sin fibrosis con valor < 5%, para aquellos con ≥ 1 pero $\leq 25\%$ Fibrosis Grado1 y finalmente para todos aquellos con > 50% Fibrosis Grado 3.

Tabla 6. Correlación de uresis horaria con el grado de fibrosis

Fibrosis Subjetiva	Pacientes	Porcentaje	Porcentaje Acumulado
Sin Fibrosis	6	8 %	8 %
Fibrosis Grado 1	36	49 %	57 %
Fibrosis Grado 2	19	26 %	83 %
Fibrosis Grado 3	12	17 %	100%
Total	73	100 %	

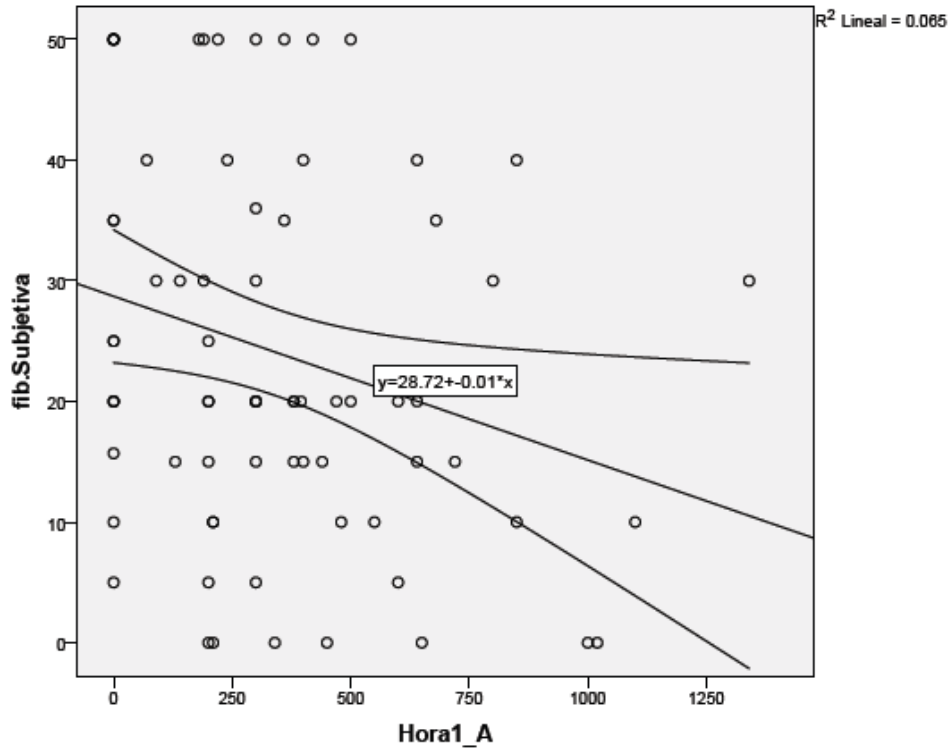
Descrito lo anterior, se utilizó la prueba de correlación de Pearson para la búsqueda de la interrelación entre la medición de fibrosis y la uresis fraccionada (horaria y total). Llama la atención que para la uresis en la primera hora se encontró una correlación negativa estadísticamente significativa, lo que podría traducir que entre más uresis menor es la cantidad de fibrosis.

Tabla 7. Correlación de uresis horaria con fibrosis

Variable	r (p)	n
Uresis Hora 1	-0.291 (0.013)	73
Uresis Hora 2	-0.104 (0.018)	73
Uresis Hora 3	-0.187 (0.114)	73
Uresis Hora 4	-0.93 (0.43)	71
Uresis Hora 5	-0.16 (0.89)	73
Uresis Hora 6	.110 (0.35)	73
Uresis Total	-0.196 (0.96)	73

A continuación se muestra gráficamente el comportamiento de la correlación entre fibrosis y uresis en la primera hora, donde se observa una correlación negativa, es decir a mayor grado de fibrosis menor uresis.

Figura 1. Gráfico de dispersión que muestra la correlación de Pearson con fibrosis y uresis en la primera hora



De igual forma se buscó intencionadamente la presencia de correlación con parámetros bioquímicos séricos y urinarios con la producción de uresis. Esto con la finalidad de establecer algunos probables predictores que se correlacionaran con la prueba.

En un análisis previo con poco menos de la mitad de los pacientes estudiados se reportó significancia estadística entre la uresis generada con la FST y la hemoglobina ($p= 0.002$), y de 0.54 para la primera hora postprueba. Al evaluar la creatinina se encontró una correlación negativa de -0.46 y -0.35 para la primera y quinta hora ($p=0.009$ y 0.04 respectivamente). Para en BUN similar a la creatinina

se encontró con una correlación negativa de -0.50 y -0.45 para la primera y quinta hora ($p=0.004$ y 0.009 respectivamente). Para la TFG solo se encontró significancia en la primera hora. Finalmente se identificó significancia estadística para los niveles de fosforo a la segunda hora de la prueba con una correlación de -0.37. Con estos resultados se realizó regresión múltiple sin encontrar significancia estadística para esta asociación.

Sin embargo en el presente estudio nosotros identificamos únicamente dos factores que nuevamente se hicieron presentes, el BUN y la creatinina.

Tabla 8. Significancia y Correlación entre parámetros de Enfermedad Renal Crónica

Fibrosis	Uresis 1ª H	Uresis 2ª H	Uresis 3ª H	Uresis 4ª H	Uresis 5ª H	Uresis 6ª H	Uresis total
Peso							
Significancia	0.011	0.904	0.940	0.160	0.903	0.102	0.960
Correlación	0.287	-0.014	-0.009	-0.163	-0.014	-0.187	-0,006
Hemoglobina							
Significancia	0.000	0.095	0.078	0.441	0.425	0.131	0.001
Correlación	0.433	0.191	0.201	0.090	0.092	0.172	0.371
Creatinina							
Significancia	0.003	0.037	0.254	0.547	0.586	0.493	0.008
Correlación	-0.333	-0.236	-0.131	-0.070	-0.063	-0.079	-0.297
BUN							
Significancia	0.001	0.005	0.296	0.547	0.831	0.788	0.058
Correlación	-0.370	-0.312	-0.120	-0.069	-0.024	-0.031	-0.217

Fosforo							
Significancia	0.679	.881	0.052	0.033	0.755	0.212	0.031
Correlación	-0.049	-0.018	-0.226	-0.248	-0.37	-0.147	-0.251
Albumina							
Significancia	0.74	0.031	0.660	.522	.132	.008	0.019
Correlación	0.32	0.252	0.052	.076	.177	.306	.272

DISCUSION

A diferencia de lo reportado en un análisis preliminar, en el presente estudio con mayor tamaño de muestra, si encontramos asociación entre la cantidad de uresis generada en la FST, especialmente en la primeras 2 horas.

La mayoría de los pacientes estudiados presentaban Fibrosis grado 1 (57%) y al analizar en conjunto a los pacientes con fibrosis grado 1 y 2 sumaban el 83%, dejando tan solo aproximadamente una tercera parte de pacientes con grados avanzados de fibrosis. En este sentido pudiera, por otro lado existir un sesgo de selección, pues probablemente aquellos pacientes que presentan niveles mayores de fibrosis presentan cambios en la arquitectura renal que condicionan que con el paso del tiempo las dimensiones renales disminuyan y potencialmente no sea considerados pacientes óptimos para la realización de biopsia renal.

Un fenómeno que frecuentemente es documentado en pacientes renales crónicos es el de generarse resistencia a diuréticos lo que podría explicar porque no se evidencio una correlación una vez transcurridos los siguientes 4 periodos de uresis.

Las limitantes son el tipo de estudio no permite tener un seguimiento, la cantidad de pacientes estudiados. Otro dato que se debe tomar en cuenta es la amplia dispersión de las variables de estudio y que no las exenta de convertirse en un sesgo.

El efecto de la hipoalbuminemia sobre la farmacocinética y farmacodinamia de la furosemida es algo que está bien estudiado, considerándose que >90 % del diurético de asa se encuentra unido a esta proteína en sangre. Los valores de albumina fueron mayores a 3 g/dL, lo que coincide con lo descrito en la literatura acerca de que valores mayores a 2.4 g/dL confieren una óptima distribución de la furosemida en sangre, para llegar a su sitio efector en el asa de henle.

Una de las principales fortalezas del estudio es que es el primer estudio piloto que explora de forma “no invasiva” la utilidad de la prueba en pacientes con enfermedad renal crónica (con especial enfoque en la integridad del tubulointersticio), sin embargo consideramos prudente en un tercer análisis con mayor número de pacientes establecer una estratificación de los pacientes por síndromes nefrológicos o bien por entidad nosológica con la finalidad de darle el valor particular que pudiera conferir cada uno de ellos al desarrollo de fibrosis.

Nuestros resultados generan una área de oportunidad para la realización de estudios a mayor escala que permitan evaluar el papel predictor de la FST en este grupo de pacientes.

CONCLUSIONES

La uresis generada a través de la prueba de estrés con furosemida en pacientes con enfermedad renal crónica, si tiene correlación con la presencia de fibrosis intersticial y atrofia tubular identificadas por biopsia renal, especialmente en las primeras 2 horas, lo que sugiere que la FST una herramienta menos invasiva que la biopsia renal con potencial capacidad de evaluar de forma indirecta la integridad de la función del tubulointersticio y que su respuesta pudiera correlacionarse con los grados de fibrosis y consecuentemente con el pronóstico de estos pacientes. Con excepción del BUN y creatinina, Ninguno de los otros factores reflejaron correlación con la presencia de fibrosis. Se requiere de más estudios para establecer resultados más contundentes.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. **Jha V, Garcia-Garcia G, Iseki K. et al.** Chronic kidney disease: global dimension and perspectives. *Lancet* 2013; 382: 260–272
2. **De Nicola L, Zocalli C.** Chronic kidney disease prevalence in the general population: heterogeneity and concerns. *Nephrol Dial Transplant* (2016) 31: 331–335
3. **Grassmann A, Gioberge S, Moeller S. et al.** ESRD patients in 2004: global overview of patient numbers, treatment modalities and associated trends. *Nephrol Dial Transplant* 2005; 20: 2587–2593
4. **Liu L, Oza S, Hogan D, Perin J, Rudan I, Lawn JE, Cousens S, Mathers C, Black RE.** Global, regional, and national age-sex specific all-cause and cause-specific mortality for 240 causes of death, 1990-2013: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2013. *Lancet*. 2015 January 10; 385(9963): 117–171.
5. United States Data System. *USRDS 2013. Annual Data Report: Atlas of Chronic Kidney Disease and End Stage Disease in the United States*. National Institutes of Health. National Institute of Diabetes and Digestive and Kidney Diseases. Bethesda, MD, 2013.
6. **Cueto-Manzano AM. et al.** Prevalence of Chronic Kidney Disease in an Adult Population. *Archives of Medical Research* 45 (2014) 507e513
7. **Skorecki K. et al.** Anatomy of the Kidney. Brenner & Rector's The kidney..chapter 2. Tenth Edition. Ed. El Sevier. Vol 1. 2016 pp75-80
8. **Kriz W, Kaissling B.** Structural organization of the mammalian kidney. In: Seldin D, Giebisch G, eds. *The Kidney*. 3rd ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; 2000:587-654.
9. **Kaissling B, Hegyi I, Loffing J, Le Hir M.** Morphology of interstitial cells in the healthy kidney. *AnatEmbryol*. 1996;193:303-318.
10. **Alcorn D, et al.** Development of the renal interstitium. *PediatrNephrol* 1999;13:347
11. **Kaissling B, Le Hir M.** The renal cortical interstitium: morphological and functional aspects. *Histochem Cell Biol* 2008;130:247
12. **Nikolic-Paterson D. et al.** Macrophages promote renal fibrosis through direct and indirect mechanisms. *Kidney International Supplements* (2014) 4, 34–38;

13. **Tampe, D. & Zeisberg, M.** Potential approaches to reverse or repair renal fibrosis. *Nat. Rev. Nephrol.* 10, 226–237 (2014)
14. **Zeisberg M et.al.** Mechanisms of Tubulointerstitial Fibrosis. *J Am Soc Nephrol* 2010;21:1819–1834
15. **Nath K et.al.** Tubulointerstitial changes as a major determinant in the progression of renal damage. *Am J Kidney Dis.* 1992;20(1):1-17.
16. **Hewitson T. et.al.** Fibrosis in the kidney: is a problem shared a problem halved?. *Fibrogenesis & Tissue Repair* 2012;5(1):1-5
17. **Iwano M. et.al.** Mechanisms of tubulointerstitial fibrosis. *Current Opinion in Nephrology and Hypertension* 2004;13:279–284
18. **Rining T. et.al.** The Effects of Endothelial Injury in Renal Fibrosis Progression. *Austin J Nephrol Hypertens* 2014;1(5):1-5
19. **Portilla D. et.al.** Apoptosis, Fibrosis and Senescence. *Nephron Clin Pract* 2014;127:65–69
20. **Mannon RB, Matas AJ, Grande J, et al.** Inflammation in areas of tubular atrophy in kidney allograft biopsies: a potent predictor of allograft failure. *Am J Transplant* 2010; 10:2066–2073.
21. **Haas M et.al.** Chronic allograft nephropathy or interstitial fibrosis and tubular atrophy: what is in a name? *Curr Opin Nephrol Hypertens* 2014;23:245-250
22. **Venner J, et.al.** Relationships among injury, fibrosis, and time in human kidney transplants. *JCI Insight.* 2016;1:1-17
23. **Lee S, et al** Therapeutic targets for treating fibrotic kidney Diseases. *Translational Research* 2015;165:512–530
24. **Smith HW.** The kidney: structure and function in health and disease. New York: Oxford University Press, Inc., 1951.
25. **Myers GL, Miller WG, Coresh J, Fleming J, Greenberg N, Greene T, et al.** Recommendations for improving serum creatinine measurement: a report from the Laboratory Working Group of the National Kidney Disease Education Program. *Clin Chem* 2006;52:5–18.
26. **Ferguson M.** Established and Emerging Markers of Kidney Function. *Clinical Chemistry* 2012;58(4):680–689

- 27. Gowda S, Desai PB, Kulkarni SS, Hull VV, Math AAK, Vernekar SN.**Markers of renal function tests. *North Am J Med Sci* 2010; 2: 170-173.
- 28. Bauer JH, Brooks CS, Burch RN.**Clinical appraisal of creatinine clearance as a measurement of glomerular filtration rate.*Am J Kidney Dis* 2:337-346, 1982 2. Levey AS: Nephrology forum: Measurement of renal function in chronic renal disease. *Kidney Int* 38:167-184, 1990
- 29. Nilsson-Ehle P, Grubb A.** New markers for the determination of GFR: Iohexol clearance and cystatin C serum concentration. *Kidney IntSuppl* 46:S17-S19, 1994
- 30. Levey AS, Bosch JP, Lewis JB, Greene T, Rogers N, Roth D.** A more accurate method to estimate glomerular filtration rate from serum creatinine: A new prediction equation. *Ann Intern Med* 130:461-470, 1999
- 31. Grubb AO.** Cystatin C—Properties and use as diagnostic marker. *AdvClinChem* 35:63-99, 2000
- 32. Knight EL, Verhave JC, Spiegelman D, et al:** Factors influencing serum cystatin C levels other than renal function and the impact on renal function measurement. *Kidney Int* 65:1416-1421, 2004
- 33. Coresh J, Astor BC, McQuillan G, et al** Calibration and random variation of the serum creatinine assay as critical elements of using equations to estimate glomerular filtration rate.*Am J Kidney Dis* 39:920-929, 2002
- 34. Cockcroft DW, Gault MH.** Prediction of creatinine clearance from serum creatinine. *Nephron* 16:31-34, 1976
- 35. Luke RG.**Urea and the BUN. *N Engl J Med* 305:1213-1215, 1981
- 36. Herrington D, Drusano G, Smalls U, et al** False elevation in serum creatinine levels. *JAMA* 252:2962, 1984 (letter)
- 37. Ibrahim H, Mondress M, Tello A, et al.**An alternative formula to the Cockcroft-Gault and the Modification of Diet in Renal Diseases formulas in predicting GFR in individuals with type 1 diabetes.*JAmSocNephrol* 16:1051-1060, 2005
- 38. Froissart M, Rossert J, Jacquot C, et al.** Predictive performance of the Modification of Diet in Renal Disease and Cockcroft-Gault equations for estimating renal function. *J Am SocNephrol* 16:763-773, 2005
- 39. Zerbe RL, Robertson GL.**A comparison of plasma vasopressin measurements with a standard indirect test in the differential diagnosis of polyuria. *N Engl J Med* 305:1539- 1546, 1981

40. **Halperin ML, Richardson RM, Bear R, et al.** Urine ammonium: The key to the diagnosis of distal renal tubular acidosis. *Nephron* 50:1-4, 1980
41. **Battle DC.** Segmental characterization of defects in collecting tubule acidification. *Kidney Int* 30:546-554, 1986
42. **Sabatini S, Kurtzman NA.** Pathophysiology of the renal tubular acidoses. *Semin Nephrol* 11:202-211, 1991
43. **Carvounis CP, Nisar S, Guro-Razuman S.** Significance of the fractional excretion of urea in the differential diagnosis of acute renal failure. *Kidney Int* 62:2223-2229, 2002
44. **Rabb H.** Evaluation of urinary markers in acute renal failure. *Curr Opin Nephrol Hypertens* 7:681-686, 1998
45. **Miller TR, Anderson RI, Linas SL, et al.** Urinary diagnostic indices in acute renal failure: A prospective study. *Ann Intern Med* 88:47-57, 1978
46. **Sharma A, Mucino MJ, Ronco C.** Renal functional reserve and renal recovery after acute kidney injury. *Nephron Clin Pract* 2014; 127: 94–100.
47. **Ronco C, Rosner MH.** Acute kidney injury and residual renal function. *Crit Care* 2012; 16: 144.
48. **Ronco C, Chawla L.** Glomerular and Tubular Kidney Stress Test: New Tools for a Deeper Evaluation of Kidney Function. *Nephron*. 2016;134(3):191-194
49. **De Nicola L, Blantz RC, Gabbai FB.** Renal functional reserve in treated and untreated hypertensive rats. *Kidney Int* 1991; 40: 406– 412.
50. **Ronco C, Kellum JA, Haase M.** Subclinical AKI is still AKI. *Crit Care* 2012; 16: 313.
51. **Spasovski D.** Renal markers for assessment of renal tubular and glomerular dysfunction. *J Nephropharmacol*. 2013; 2(2): 23–25.
52. **Osborne CA, Bartges JW, Polzin DJ, et al.** Percutaneous needle biopsy of the kidney; indications, applications, technique, and complications. *Vet Clin North Am (Small Anim Pract)* 26: 1461-1504, 1996
53. **Vaden SL.** Renal biopsy: methods and interpretation. *Vet Clin North Am (Small Anim Pract)* 34:887-908, 2004
54. **Vaden SL, Brown CA: Renal biopsy, in Elliott JA, Grauer GF (eds)** BSAVA Manual of Canine and Feline Nephrology and Urology (ed 2). Quedgeley, Gloucester, UK, British Small Animal Veterinary Association, pp 167-177, 2007

- 55. Lees GE, Berridge BR.** Renal biopsy—when&why. *Clinician's Brief* 7(10):26-28, 2009
- 56. Lees GE, Bahr A.** Renal biopsy, in Bartges JW, Polzin DJ (eds): *Nephrology and Urology of Small Animals*. West Sussex, UK, Wiley-Blackwell, pp 209-214, 2011
- 57. Roberts I.et.al.** Oxford classification of immunoglobulin A nephropathy: an update. *CurrOpinNephrolHypertens* 2013, 22:281–286
- 58. Farris A.et.al.**Banff Fibrosis Study: Multicenter Visual Assessment and Computerized Analysis of Interstitial Fibrosis in Kidney Biopsies. *American Journal of Transplantation* 2014; 14: 897–907
- 59. Farris, A. et.al.**Morphometric and Visual Evaluation of Fibrosis in Renal Biopsies. *J Am SocNephrol* 2011;22:176–186
- 60. Wong M, et al.** Biomarkers in kidney fibrosis: are they useful?. *Kidney International* 2014;4:79–83
- 61. Wong M, et al.** Circulating bone morphogenetic protein-7 and transforming growth factor-beta1 are better predictors of renal end points in patients with type 2 diabetes mellitus. *Kidney Int* 2013; 83: 278–284
- 62. Nakagawa S, Nishihara K, Miyata H, Shinke H, Tomita E, Kajiwara M, et al.**Molecular Markers of Tubulointerstitial Fibrosis and Tubular Cell Damage in Patients with Chronic Kidney Disease.*PLoS ONE* 2015;10(8): 1-14
- 63. Baek SM, Brown RS, Shoemaker WC.**Early prediction of acute renal failure and recovery. I. Sequential measurements of free water clearance. *Ann Surg* 1973, 177:253-258.
- 64. Chawla LS, Davison DL, Brasha-Mitchell E, Koyner JL, Arthur JM, Shaw AD, et al.** Development and standardization of a furosemide stress test to predict the severity of acute kidney injury. *Crit Care* 2013; 17:R207.
- 65. Hasannejad H, Takeda M, Taki K, Shin HJ, Babu E, Jutabha P, Khamdang S, Aleboyeh M, Onozato ML, Tojo A, Enomoto A, Anzai N, Narikawa S, Huang XL, Niwa T, Endou H.** Interactions of human organic anion transporters with diuretics. *J PharmacolExpTher* 2004, 308:1021-1029.
- 66. Bowman RH.**Renal secretion of [35-S]furosemide and depression by albumin binding. *Am J Physiol* 1975, 229:93-98.
- 67. Koyner JL, Davison DL, Brasha-Mitchell E, Chalikonda DM, Arthur JM, Shaw AD, et al.** Furosemide stress test and biomarkers for the prediction of AKI severity. *J Am SocNephrol* 2015; 26: 1747–1754.