

Función renal y eventos oxidativos en ratas machos adultas con hepatectomía parcial

Mahieu, S.¹; Gonzalez, M.A.¹; Millen, N.¹; Contini, M.C.¹, Elías, M.M.²

1- Fisiología Humana, Facultad de Bioquímica y Ciencias Biológicas, Universidad Nacional del Litoral. Ciudad Universitaria. Paraje El Pozo. Santa Fe. Argentina.

2- Farmacología, Departamento de Ciencias Fisiológicas. Facultad de Ciencias Bioquímicas y Farmacéuticas. Universidad Nacional de Rosario. Rosario. Argentina.

RESUMEN: Se estudiaron diversos índices de la función renal y parámetros vinculados al estrés oxidativo en tejido renal en ratas macho adultas, durante el estadio temprano de la regeneración hepática. Se determinaron balances de agua y sodio a los 4 días posthepatectomía parcial (HP) (65%). Los parámetros hemodinámicos y tubulares fueron analizados a través de técnicas de clearance. El tejido renal fue homogeneizado para determinar las actividades de las enzimas antioxidantes glutatión peroxidasa (GSH-Px) y catalasa, así como los niveles de glutatión (GSH) y lipoperoxidación (LPO). Las ratas HP presentaron una reducción de los balances de agua y sodio, con disminución de la osmolaridad urinaria y de la excreción de sodio. Esto fue acompañado con un aumento en la concentración de aldosterona plasmática. Las ratas HP mostraron una reducción de la velocidad de filtrado glomerular, con aumento de la excreción fraccional de agua y sodio. La hepatectomía indujo un incremento en los niveles de LPO, con reducción de GSH y de las actividades de GSH-Px y catalasa. Este estudio demuestra que la regeneración hepática va acompañada de modificaciones funcionales renales, así como de un aumento en el estrés oxidativo en tejido renal.

Palabras claves: regeneración hepática, función renal, estrés oxidativo

SUMMARY. Renal functions and oxidative events in adult male rats with partial hepatectomy. Mahieu, S.¹; Gonzalez, M.A.¹; Millen, N.¹; Contini, M.C.¹, Elías, M.M.². Various indices of renal function during the early stage of hepatic regeneration were studied in adult male rats. Sodium and water balances were measured four days after partial hepatectomy (PH) (65%). Tubular and hemodynamic parameters were studied using clearance techniques. Renal tissue was homogenized to determine the activities of antioxidant enzymes, glutathione peroxidase (GSH-Px) and catalase, and the glutathione (GSH) and lipid peroxidation (LPO) levels. The PH rats presented a reduction in the urine osmolality and in the water balance, together with a reduction in sodium excretion as compared to that in control group. The sodium balance was also decreased. PH group reduced the glomerular filtrate rate. The fractional excretion of water and sodium increased in the PH group. PH promoted an increase in aldosterone. PH induced an increment in LPO with depletion of GSH, and a reduction of GSH-Px and catalase activity in renal tissue. This study demonstrates that renal functions might be altered in the early stages of hepatic regeneration and it is accompanied by the increase of oxidative stress in renal tissue.

Key words: hepatic regeneration, renal function, oxidative stress.

Correspondencia:

Dra Stella Mahieu. San Jerónimo 1798. P11. Santa Fe.
3000. TE: 0342-4594619
smahieu@fbc.unl.edu.ar

Resultados parciales fueron presentados en la XLVIII Reunión Científica Anual de la Sociedad Argentina Investigación Clínica (SAIC). Mar del Plata. 2003.

Introducción

La falla renal ocurre en 40-80% de pacientes en el estadio final de enfermedad hepática y está asociada a un pronóstico desfavorable (1,2). El desarrollo de falla renal en ausencia de causas renales clínicas, anatómicas o patológicas es denominado síndrome hepato-renal (SHR). Clásicamente, este síndrome fue asociado al estadio final de la cirrosis. Sin embargo, está reconocido que la falla renal ocurre espontáneamente en aproximadamente el 50% de pacientes con falla hepática aguda (3) y el reconocimiento que el SHR puede desarrollar en esta situación está ahora específicamente incluida dentro de la más reciente definición de SHR (4). La falla hepática aguda, caracterizada por una injuria severa a los hepatocitos o una necrosis hepática masiva está acompañada por una falla renal oligúrica (5) y si bien usualmente está presente una alteración renal funcional se han reportado casos de necrosis tubular aguda (6).

En animales de experimentación se han reportado anomalías en la función renal similares a las observadas en falla renal aguda, pocos días después de la ligadura del conducto biliar y previa a la formación de ascitis (7), así como en la injuria hepática inducida por galactosamina (8).

La resección hepática es seguida de un rápido crecimiento de los lóbulos remanentes hasta la restauración de la masa original. Durante este proceso se producen modificaciones citológicas y funcionales responsables de alteraciones en el metabolismo hepático, así como de una disminución de la eficiencia secretoria del hígado (9). Además se ha observado durante el proceso de regeneración hepática un incremento en el índice de lipoperoxidación con reducción en la actividad de enzimas antioxidantes (10).

Este estudio fue realizado para caracterizar los cambios funcionales renales y el estado oxidativo en tejido renal durante la fase inicial de la regeneración hepática post extirpación del 65% del tejido hepático.

Materiales y método

Se utilizaron ratas machos, adultas, de la cepa Wistar, con un peso entre 300-350g. Los animales fueron mantenidos en jaulas metabólicas a tempera-

tura controlada ($22 \pm 2^\circ\text{C}$), con un ciclo luz-oscuridad de 12/12 horas y recibieron dieta estándar y agua ad libitum. Fueron distribuidos en dos grupos experimentales.

1. Control (C) (n=8)

2. *Ratas hepatectomizadas (HP) (n=8)*: ratas estudiadas después de una hepatectomía parcial del 65%.

Las hepatectomías parciales fueron realizadas según el procedimiento de Higgins y Anderson (11). Las ratas del grupo HP fueron controladas entre el 3º y 4º día de efectuada la cirugía.

Estudios Metabólicos

Los animales del grupo C fueron distribuidos en jaulas metabólicas 4 días previos al estudio de la función renal, mientras que al grupo HP se lo alojó al concluir la cirugía, a fin de obtener la excreción de orina así como la ingesta de alimento y agua en 24 horas. El balance diario de sodio fue calculado como el sodio ingerido menos el sodio excretado. Después de 2 días de adaptación se midieron los balances de agua y sodio durante 2 días en el grupo C, y durante 1 día en el grupo HP.

Estudio de la función renal

Los animales de ambos grupos fueron preparados para estudios de clearance como fuera descrito antes (12). Los animales fueron anestesiados con pentobarbital sódico (50 mg/kg de peso corporal). La vena y la arteria femoral fueron cateterizadas (P50) y un catéter fue insertado en vejiga por incisión suprapúbica. Los animales se mantuvieron en jaulas de contención durante todo el experimento. Por vena femoral se infundió una solución conteniendo inulina (1g/100 ml), p-aminohipurato de sodio (0,3 g/100 ml) y solución salina isotónica a una velocidad constante de 4.1 ml/h usando una bomba de infusión (Sage Instruments, model 341-B). Después de un periodo de equilibración de 1 hora, se obtuvieron muestras de orina durante dos periodos de 30 minutos y una muestra de sangre por arteria femoral en el medio de cada periodo. Al finalizar el experimento se extrajo sangre por punción cardiaca, los riñones fueron removidos rápidamente y colocados en solución fisiológica fría. Este tejido fue utilizado para determinar el estado oxidativo.

Se midió el volumen urinario por gravimetría y se determinaron la velocidad de filtrado glomerular (VFG) por el clearance de inulina, y el flujo plasmático renal cortical (FPRC) a través del clearance de p-aminohipurato (CI PAH). La fracción de filtración (FF) fue obtenida a partir de estos datos. A fin de estudiar la función tubular se estimaron las excreciones fraccionales de agua y sodio (EF% H₂O y EF% Na). Se determinó la relación osmolaridad de orina a plasma (U/P). Las concentraciones de aldosterona y potasio fueron medidas en muestras de suero. La actividad de las enzimas lactato dehidrogenasa (LDH) y alanina amino transferasa (ALAT) en suero fueron usadas para evaluar la injuria hepática.

Estudios bioquímicos en tejido renal

El tejido renal fue homogeneizado a fin de determinar la actividad citosólica de las enzimas antioxidantes: glutatión peroxidasa (GSH-Px) y catalasa (CAT), el pool de sulfhidrilos no proteicos (fundamentalmente glutatión - GSH) y los niveles de lipoperoxidación (LPO).

Para determinar la actividad enzimática se prepararon homogenados renales con solución de sacarosa 0.25M, conteniendo buffer fosfato 0.03M y Na₂EDTA 0.001M (pH 7.4). La actividad de GSH-Px fue medida por el método de Paglia y Valentine (13) y la actividad de catalasa por el método de Beers and Sizer (14).

El contenido de GSH se evaluó por espectrofotometría en homogenados preparados con ácido tricloroacético al 5% en HCl 0.01 M según Ellman (15). La LPO se midió como especies reactivas al ácido tiobarbitúrico (TBARS) de acuerdo al método de Okhawa (16), en homogenados preparados en solución de KCl al 1.15%. Se determinó la concentración de proteínas en los homogenados renales por el método de Lowry (17).

Métodos Analíticos

La determinación de la actividad de LDH y ALAT fue obtenida con un autoanalizador. La concentración de aldosterona fue obtenida por radioinmunoensayo (kit DPC). Las concentraciones de inulina y PAH en las muestras fueron determinadas por el método de Roe (18) y el método de Brun modificado por Waugh and Beall (19) respectivamente. Las concentraciones de sodio y potasio fueron determinadas por

fotometría de llama y la osmolaridad se obtuvo con un osmómetro Vapro 5520 (Wescor).

Análisis Estadístico

Los resultados fueron expresados como la media \pm ESM. En todos los casos fueron comparadas las medias entre ambos grupos. Se utilizó el test t-Student para datos no pareados, previo estudio de normalidad y homogeneidad de varianzas. Cuando estas no fueron satisfechas se utilizó el test de Mann-Whitney. Un valor de $p < 0.05$ fue considerado significativo.

Resultados

Las ratas toleraron el procedimiento quirúrgico. Los animales sham no mostraron diferencias con el grupo control cuando se estudiaron al 4º día, por lo que los valores fueron promediados y presentados como un solo grupo. El grupo HP mostró una reducción del peso corporal y un incremento significativo en las actividades de las enzimas LDH y ALAT en el 4º día post hepatectomía. Los datos se muestran en la tabla 1.

Los resultados de los balances de agua y sodio se pueden observar en la tabla 2. La hepatectomía redujo la ingesta de alimento y la excreción de sodio, con una disminución de su balance. Así mismo se observó una disminución del balance de agua y de la osmolaridad urinaria en las ratas HP.

La VFG estimada por el clearance de inulina, el flujo renal cortical estimado por el clearance de PAH y la FF se presentan en la tabla 3. Algunas funciones hemodinámicas estarían alteradas en la fase temprana de la regeneración hepática. La VFG se encontró significativamente reducida, sin cambios en el FPRC.

La hepatectomía promovió un aumento tanto en la EF% H₂O como en la EF% Na, sin cambios en la relación $[U/P]_{osm}$ (tabla 3). Esto fue acompañado por un incremento significativo de la concentración sérica de aldosterona, sin cambios en las concentraciones de sodio y potasio (tabla 4).

Los resultados de los estudios bioquímicos en homogenados de tejido renal se pueden observar en figura 1. La hepatectomía indujo una reducción en las actividades de GSH-Px, y de catalasa, con un incremento significativo en la LPO y una disminución en los niveles de GSH.

Tabla 1: Peso corporal y actividades séricas de LDH y ALAT en los grupos control y con hepatectomía parcial.

Grupos	Peso corporal g	LDH U/l	ALAT U/l
C (n=8)	330 ± 10	303 ± 28	25.5 ± 0.9
HP (n=8)	285 ± 8*	789 ± 121*	102.2 ± 20.9*

C: control HP: hepatectomía parcial.

LDH: láctico dehidrogenasa ALAT: alanina amino transferasa

Los parámetros fueron controlados al 4º día post cirugía. Los resultados se expresaron como la media ± ESM

* Diferencia significativa respecto del grupo control $p < 0.05$

Tabla 2: Balances de agua y sodio en los grupos control y con hepatectomía parcial

Grupos	V _u ml/día	B _{H₂O} ml/día	[Osm] _u mOsm/l	E _{Na} mmol/día	B _{Na} mmol/día
C n=8	10.3 ± 0.56	17.38 ± 0.57	2374 ± 59	0.195 ± 0.01	0.93 ± 0.02
HP n=8	8.5 ± 0.90	13.84 ± 0.99*	1989 ± 145*	0.091 ± 0.01*	0.67 ± 0.05*

C: control HP: hepatectomía parcial

V_u: volumen urinario; B_{H₂O}: balance de agua; [Osm]_u: osmolaridad de la orina; E_{Na}: excreción sodio urinario; B_{Na}: balance de sodio

Los parámetros fueron controlados entre el 3 y 4º día post cirugía. Los resultados se expresaron como la media ± ESM.

* Diferencia significativa respecto del grupo control $p < 0.05$

Tabla 3. Efectos de la hepatectomía sobre la función renal.

Grupos	VFG ml/min 100g	CI PAH ml/min 100g	FF	EF% _{H₂O}	EF%Na	[U/P] _{OSM}
C n=8	0,81 ± 0,02	3,15 ± 0,20	0,29 ± 0,012	0,27 ± 0,03	0,17 ± 0,03	5,94 ± 0,28
HP n=8	0,63 ± 0,03 *	3,42 ± 0,25	0,19 ± 0,013 *	0,50 ± 0,05 *	0,28 ± 0,04 *	5,12 ± 0,40

C: control HP: hepatectomía parcial

VFG: velocidad filtrado glomerular; CIPAH: clearance de pa-aminohipurato; FF: fracción de filtración; EF%_{H₂O}: excreción fraccional de agua; EF%Na: excreción fraccional de sodio; [U/P]_{OSM} relación osmolaridad orina a plasma.

Los parámetros fueron controlados al 4º día post cirugía. Los resultados se expresaron como la media ± ESM.

* Diferencia significativa respecto del grupo control $p < 0.05$

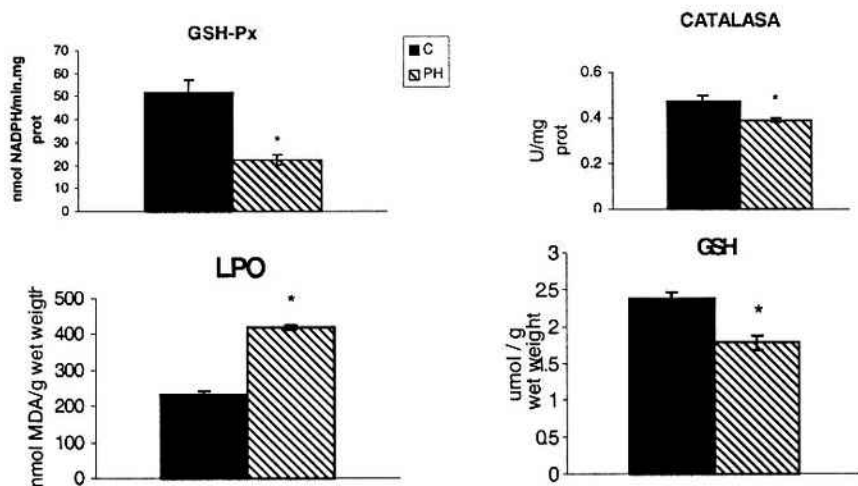
Tabla 4. Parámetros funcionales renales plasmáticos en ratas control y con hepatectomía parcial

Grupos	Aldosterona pg/ml	Na mmol/l	K mmol/l
C n=8	330 ± 41	138,1 ± 1,1	4,85 ± 0,11
HP n=8	660 ± 101*	141,3 ± 0,8	4,68 ± 0,23

C: control HP: hepatectomía parcial

Los parámetros fueron controlados al 4º día post cirugía. Los resultados se expresaron como la media ± ESM.

* Diferencia significativa respecto del grupo control $p < 0.05$

Figura 1: Efectos de la hepatectomía sobre la actividad de las enzimas antioxidantes glutatión peroxidasa (GSH-Px) y catalasa y los niveles de glutatión (GSH) y grado de lipoperoxidación (LPO) en tejido renal.

C: control HP: hepatectomía parcial

Los parámetros fueron controlados al 4º día post cirugía. Los resultados se expresaron como la media ± ESM

* Diferencia significativa respecto del grupo control $p < 0.05$.

Discusión

Numerosas observaciones sugieren la existencia de una relación entre el hígado y el riñón. La falla renal progresiva característica del SHR pareciera depender de la presencia de factores humorales y/o neurales resultantes de una función hepática alterada. Las modificaciones en la función renal incluyen

reducción del flujo sanguíneo renal, y velocidad de filtrado glomerular, retención de sodio y alteración de la capacidad de dilución (20, 21, 22). Por otra parte las funciones renales podrían estar alteradas en los estadios tempranos de daño hepático previo a la formación de ascitis (7, 23).

En este trabajo se ha caracterizado un modelo de falla hepática aguda en la rata, inducida por una

hepatectomía del 65%, que desarrolla alteraciones funcionales renales.

Es conocido que una vez producida la hepatectomía parcial comienza en los lóbulos remanentes un proceso de hiperplasia compensatoria con modificaciones citológicas y funcionales que llevan a alteraciones tanto en el metabolismo hepático como en la secreción de compuestos tanto endógenos como exógenos (24, 25).

En los animales HP se observó un incremento en las enzimas utilizadas para evaluar la injuria hepática, pero no presentaron ascitis.

La hepatectomía disminuyó el peso corporal debido fundamentalmente a una reducción en la ingesta de alimento y agua, lo que llevó a una disminución en los balances respectivos. El incremento en la concentración de aldosterona inducida en estas condiciones, podría explicar su contribución al mantenimiento del balance hidrosalino, así como a la reducción en la excreción urinaria de sodio durante su baja ingesta. Así mismo, el grupo HP mostró una falla significativa en la concentración de la orina, dato que coincide con el obtenido en otros modelos experimentales (7, 23).

La reducción en la excreción urinaria de sodio durante la regeneración hepática sugeriría en principio que la función renal estaría preservada, pero también podría ser una respuesta ante la reducida ingesta de sodio en los animales con injuria hepática.

La hepatectomía indujo una reducción en la VFG y FF sin cambios en el flujo plasmático renal cortical, lo que estaría indicando un efecto disociado con las variaciones de este último. Los cambios en la liberación de factores humorales de origen hepático o neuronal podrían promover la disminución en la VFG. En este sentido, algunos estudios han demostrado que otros factores podrían estar involucrados en la reducción de la VFG sin cambios proporcionales en el flujo sanguíneo renal (23, 26). Se ha sugerido que eventos independientes de la vasoconstricción renal tales como una reducción de la fracción de filtración o una disminución en el coeficiente de ultrafiltración glomerular (Kf) podrían ser responsables del efecto antes mencionado (27). Otros modelos tales como la falla hepática aguda inducida por galactosamina (23) o la ligadura del conducto biliar (7) desarrollan tanto una disminución del flujo sanguíneo renal como de la VFG.

Hay datos que sugieren que un aumento del desvío intrahepático-portal sistémico y el deterioro de la masa hepática podría iniciar una cadena de eventos que llevaría a la alteración de los niveles sistémicos de agentes vasoactivos lo que podría ocasionar alteraciones tanto en la hemodinamia como en la función renal (8).

Bajo circunstancias normales la reducción de la perfusión renal está acompañada de una disminución en la excreción de agua y sal. La hepatectomía estuvo asociada a un aumento tanto en la EF%Na como en la EF% H₂O. Es de destacar que la EF%Na estuvo significativamente aumentada en la hepatectomía a pesar de la reducción en la VFG y del incremento de la concentración plasmática de aldosterona. En este sentido el incremento en las EF% Na y EF% H₂O observadas en el 4º día posthepatectomía podría sugerir la presencia de un daño tubular moderado. Por otra parte no se han observado cambios en la relación U/P a pesar de que los animales hepatectomizados muestran una reducción en la osmolaridad de la orina en los balances. La alteración tubular podría ser atribuida a algunos componentes biliares que pudieran tener acceso a la circulación sistémica como se reportara (28, 29) en perros que recibían bilis diluida o sales biliares. Otros modelos animales con falla hepática aguda han mostrado incrementos en la excreción de agua y sodio respecto a los controles (7, 23).

En ratas con hepatectomía parcial fue observado en el tejido remanente durante el proceso de regeneración hepática, un aumento del índice de lipoperoxidación, con reducción de la actividad de enzimas antioxidantes que podrían reflejar un aumento en la producción de radicales libres, sin cambios en los niveles de glutation (10, 30). Cambios similares pudimos comprobar a nivel de tejido renal en ratas con hepatectomía parcial, si bien el incremento de LPO fue acompañado tanto de la reducción de las actividades de GSH-Px y de catalasa, como del nivel de GSH. Por otra parte este efecto coincidiría con datos que muestran un aumento del estado oxidativo a nivel intestinal después de una hepatectomía parcial (31, 32). Las especies oxígeno reactivas libres pueden llevar a la peroxidación de lípidos y han sido implicadas como mediadores de nefrotoxicidad en las injurias tisulares producidas por tóxicos, isquemia y factores inmunes (33, 34).

Así mismo se ha comprobado que ratas tratadas con tetracloruro de carbono durante 2-3 meses, desarrollan cirrosis con ascitis, retención de agua y sodio, y una ligera disminución en la VFG. Estos estudios han sido interpretados a la luz del aumento de la peroxidación lipídica inducida a nivel renal (35). No obstante, este efecto fue observado a las pocas horas de administración del tóxico y cabría preguntarse si los mismos son secundarios a una función hepática alterada o son debidos a una injuria directa sobre el riñón.

Son necesarios estudios adicionales para determinar si las alteraciones funcionales renales están vinculadas directamente al incremento del estrés oxidativo, así como para clarificar los mecanismos más probables a través de los cuales la regeneración hepática induce cambios a nivel funcional y en el estado oxidativo renal.

En resumen el presente estudio ha demostrado que durante el proceso de regeneración hepática que sigue a una hepatectomía parcial, se produce una falla renal secundaria a la alteración hepática, con reducción de la VFG, alteración moderada de la función tubular e inducción de estrés oxidativo.

Agradecimientos

Este trabajo se enmarcó dentro de un proyecto CAI+D, subsidiado con fondos de la Universidad Nacional del Litoral.

Bibliografía

1. Shear, S.; Kleinerman, J. and Gabuzda, G.J. 1965. Renal failure of patients with cirrhosis of the liver. Clinical and pathological characteristics. *Am. J. Med.* **39**:184-90.
2. Dagher, L. and Moore, K. 2001. The hepatorenal syndrome. *Gut.* **49**:729-737.
3. Ring-Larsen H. and Palazzo, U. 1981. Renal failure in fulminant hepatic failure and terminal cirrhosis: a comparison between incidence, types and prognosis. *Gut.* **22**:585-591.
4. Arroyo, V.; Gines, P.; Gerbes, A.L.; Dudley, F.J.; Gentilini, P.; Laffi, G.; Reynolds, T.B.; Ring-Larsen, H. and Scholmerich, J. 1996. Definition and diagnostic criteria of refractory ascites and hepatorenal syndrome in cirrhosis. *Hepatology.* **23**:164-176.
5. Moore, K.; Taylor, G. and Ward, P.1991. Aetiology and management of renal failure in acute liver failure. In: Williams R.; Hughes R.D., eds. *Acute liver failure: improved*

understanding and better therapy". London: Miter Press. 47-53.

6. Moreau, R. and Lebrec, D. 2003. Acute renal failure in patients with cirrhosis: perspectives in the age of MELD. *Hepatology.* **37**:233-243.
7. Monasterolo, L.; Peiretti, A. and Elias, M.M. 1993. Rat renal functions during de first days post-bile duct ligation. *Renal Failure* **15**(4): 461-467.
8. Javié, P.; Yates, J.; Kynaston, H.G.; Parsons, K.F. and Jenkins, S.A. 1998. Hepatosplanchnic haemodynamics and renal blood flow and function in rats with liver failure. *Gut.* **43**: 272-279.
9. Pérez Barriocanal, F.; González, J. and Esteller, A. 1986. Biliary secretion in the rat after partial hepatectomy. *Comp. Biochem. Physiol.* **84A** (3) 559-563.
10. Carnovale, C.E.; Scapini, M.L.; Alvarez, C.; Favre, J.; Monti, J. and Carrillo, M.C. 2000. Nitric oxide release and enhancement of lipid peroxidation in regenerating rat liver. *J. Hepatol.* **32**(5):798-804.
11. Higgins, D.M. and Anderson, R.M. 1931. Experimental pathology of liver. Restoration of the liver of the white rat following partial surgical removal. *Arch. Pathol.* **12**: 186-202.
12. Mahieu, S.; Gionotti, M., Millen, N.; and Elias, M.M. 2003. Effect of chronic accumulation of aluminum on renal function, cortical renal oxidative stress and cortical renal organic anion transport in rats. *Arch. Toxicol.* **77** : 605-612.
13. Paglia, D.E. and Valentine, W.N. 1967. Studies on the quantitative and qualitative characterization of erythrocyte glutathione-peroxidase. *J.Lab.Clin.Med.* **70**:158-169.
14. Beers, R.F. and Sizer, I.W.1952. A spectrophotometric method for measuring the breakdown of hydrogen peroxide by catalase. *J. Biol. Chem.* **195**: 133-140.
15. Ellman, G.L. 1959. Tissue sulphhydryl groups. *Arch. Biochem. Biophys.* **82**: 70-73.
16. Ohkawa, H.; Ohishi, N. and Yagi, K. 1979. Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Anal. Biochem.* **95**: 351-357.
17. Lowry, O.H.; Rosebrough, N.J.; Farr, A.L. and Randall, R.J. 1951. Protein measurement with the Folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.* **193**: 265-275.
18. Roe, H.H.; Epstein, J.H. and Goldstein, N.P.1949. A photometric method for determination of inulin in plasma and urine. *J. Biol. Chem.* **178**: 839-845.
19. Waugh, W.H. and Beall, P.T. 1974. Simplified measurement of para-aminohippuric acid and other arylamines in plasma and urine. *Kidney Int.* **5**: 429-436.
20. Epstein, M. Hepatorenal syndrome. 1996. In: Epstein M,

- ed. "The kidney in liver disease". 4th eds. Philadelphia; Hanley & Belfus, Inc.:75-108.
21. Martin, P.Y.; Schrier, R.W. 1997. Pathogenesis of Water and Sodium retention in cirrhosis. *Kidney Int.* **51** (suppl 59): S43-S49.
22. Murakami, S.; Ohnishi, A.; Matsuo, A.; Kawai, B.; Tada, T.; Kunihiro, N.; Chau, T.; Nagayama, K.; Tnoka, T.1997. Hepatic deservation ameliorates sodium and water retention in experimental cirrhosis in rats. *Dig. Dis. Sci.* **42**:2292-2298.
23. Anand, R.; Harry, D.; Holt, S.; Milner, P.; Dashwood, M.; Goodier, D.; Jarmulowicz, M. and Moore, K. 2002. Endothelin is an important determinat of renal function in a rat model of acute liver and renal failure. *Gut.* **50**(1):111-117.
24. Oleaga, A.; Gonzalez, J. and Esteller A. 1987. Effects of two-thirds hepatectomy on sulphobromophthalein handling by the rat liver. *Comp. Biochem. Physiol.* **87A** (1):13-19
25. Bucher, N.L.R. 1991. Liver regeneration: an overview. *J. Gastroenterol. Hepatol.* **6**: 615-624.
26. Ring-Larsen, H. 1977. Renal blood flow in cirrhosis: relation to systemic and portal haemodynamic and liver function. *Scand. J. Clin Lab Invest.* **37**:365-342.
27. Badr, K.F.; Murray, J.J.; Breyer, M.D.; Takahashi, K.; Inagami, T. and Harris, R.C.1989. Mesangial cell, glomerular and renal vascular resistance response to endothelin in the rat kidney. Elucidation of signal transduction pathways. *J. Clin. Inves.* **83**: 336-342.
28. Alon, V.; Berant, M.; Mordechovitz, D. and Better, O.S. 1982. The effect of intrarenal infusion of bile on kidney function in the dog. *Clin. Sci.* **62** : 431-433.
29. Finestone,H.; Fechner, C. and Levy, M. 1984. Effects of bile and bile salts infusion on renal function in dogs. *Can. J.Physiol. Pharmacol.* **62**: 762-768.
30. Gonzalez, M.A.; Contini, M.C.; Mahieu, S.; Carrillo, M.C. and Bernal. C. 2004. Efecto de la exposición crónica al aluminio sobre indicadores de estrés oxidativo en hígados regenerantes. *FABICIB.* **8**: 153-161.
31. Alexandris, I.H.; Assimakopoulos, S.F.; Vagianos, C.E.; Patsoukis, N.; Georgiou, C.; Nikolopoulou, V. and Scopa, CD. 2004. Oxidative state in intestine and liver after partial hepatectomy in rats. Effect of bombesin and neurotensin. *Clin. Biochem.* **37** (5): 350-356.
32. Contini, M.C.; Gonzalez, M.; Mahieu, S.; Carnovale, C.; Bernal, C. 2004. Evaluación de eventos antioxidantes en mucosa intestinal de ratas en regeneración hepática tratadas con aluminio. *FABICIB.* **8**:59-66.
33. Halliwell, B. and Gutteridge, J.M.C. 1984. Oxigen toxicity, oxigen radicals, transition metals and disease. *Biochem. J.* **219**:1-14.
34. Ichikawa, I.; Kiyama, S; and Yoshioka, T. 1994. Renal antioxidant enzymes: their regulation and function. *Kidney Int.* **45**:1-9.
35. Morrow J.D.; Awad J.A.; Kato, T.; Takahashi, K.; Badr, K.F.; Roberts, L.J. and Burk, R.F. 1992. Formation of novel non-cyclooxygenase-derived prostanoids (F2-isoprostanes) in carbon tetrachloride hepatotoxicity. An animal model of lipid peroxidation. *J.Clin. Invest.* **90**:2502-2507.