

EFFECTO DE LA HIPOALBUMINEMIA SOBRE LA DIURESIS EN RATAS.

RESUMEN Y CONCLUSIONES

Con el objeto de medir el efecto, de la concentración de albúmina sérica, sobre la diuresis en ratas. En junio del 2014, en el laboratorio de bioquímica UNT-Perú. Se realizó un estudio experimental, a doble ciego, de casos y controles. Ingresaron al estudio, 13 ratas macho; se diseñaron jaulas individuales, para medir la diuresis por día, y la concentración de albúmina sérica cada 3 días.

El experimento tuvo 3 etapas: 1^a basal, de 6 días con dieta normo-proteica normo-calórica y agua ad libitum. 2^a de restricción proteica, durante 18 días, todos los especímenes recibieron alimentación hipo-proteica, normo-calórica hasta lograr hipoalbuminemia, manteniendo agua ad libitum. 3^a experimental, se forma un grupo de 7 especímenes (casos), a las que se administró 12 a 14 microgramos de albúmina al 22%, aforado a 3 cc con solución salina, por vía intraperitoneal. Y, 6 especímenes (control), a los que se administró 3 cc de solución salina intraperitoneal. El análisis de las diferencias se realizó con el método “t” de student para promedios.

La albúmina sérica basal fue de 3.4 gr/dl, con una diuresis de 6 ml /día. Con la desnutrición restrictiva, se logró una hipoalbuminemia de 1.79 gr/dl, con disminución de la diuresis hasta 1.05 ml/día. El grupo experimental, tras la reposición de albúmina, presentó una diuresis de 6 ml; frente a 2ml/día, del grupo control ($P < 0.001$). Se concluye: que los niveles séricos de albúmina influyen en la diuresis de las ratas; la filtración de la albúmina, en la membrana glomerular, es indispensable para la formación de orina.

Palabras clave: Hipoalbuminemia, oliguria, filtración glomerular.

EFFECT ON DIURESIS HYPOALBUMINEMIA IN RATS.

SUMMARY

In order to measure the effect of the concentration of serum albumin on the diuresis in rats. In June 2014, in the laboratory of biochemistry UNT-Peru. An experimental study was conducted, double-blind, case-control. They entered the study, 13 male rats; Individual cages were designed to measure urine output per day, and the concentration of serum albumin every 3 days.

The experiment had 3 stages: 1st basement, 6 days with normal-normal-calorie protein diet and water ad libitum. 2nd protein restriction for 18 days, all specimens were fed hypo-protein, normal-calorie until hypoalbuminemia, maintaining water ad libitum. 3rd experiment, a group of 7 specimens (cases), which was administered 12 to 14 micrograms of albumin to 22%, 3 ml volumetric saline intraperitoneally forms. And, 6 specimens (control), which was administered intraperitoneally 3 cc of saline. The analysis of differences was performed with the "t" method for student averages.

The basal serum albumin was 3.4 g / dl, with a diuresis 6 ml / day. With restrictive malnutrition, hypoalbuminemia 1.79 g / dl was achieved, with decreased urine output up to 1.05 ml / day. The experimental group after the replacement of albumin, diuresis introduced 6 ml; against 2ml / day, the control group ($P < 0.001$). It concludes that serum albumin influence rat diuresis; filtration of albumin in the glomerular membrane, it is indispensable for the formation of urine.

Keywords: Hypoalbuminemia, oliguria, glomerular filtration.

INTRODUCCIÓN

La membrana basal del glomérulo es una membrana fenestrada, que permite libremente el paso de agua y de sustancias disueltas, pero es impermeable a las proteínas sobre todo a la albúmina (1), los podocitos forman poros que permiten el paso de moléculas menores a 70,000 Daltons (2,3); una capa de poliglucanos (ácido siálico y heparan sulfato), proporcionan una carga electronegativa, que rechaza las moléculas de igual carga como la albúmina (4). De tal modo que la albuminuria representa en esencia una alteración de la membrana basal del glomérulo (5).

La orina primaria, en el espacio urinario del glomérulo, antes de pasar al túbulo contorneado proximal, está constituida, por agua y pequeños solutos en una concentración idéntica a la del plasma, pero carece de células (6).

El flujo renal de los homínidos, por minuto, representa el 25 % del volumen sanguíneo; de modo que en 4 minutos, el 100% de la sangre es sometido a un proceso de filtración glomerular. Existen trabajos que **demuestran que la albúmina filtra la membrana glomerular y que esta, es reabsorbida por un sistema de caveolas** a nivel de los túbulos contorneados proximales y distales (7,8).

La albúmina pesa 64,000 Daltons, es sintetizada en el hígado a razón de 12 a 15 gr por día; posee 17 puentes disulfuro, que le dan una carga electronegativa. Las concentraciones de albúmina sérica menores de 2 gr/dl, producen edema y oliguria-anuria. No obstante estos niveles séricos de albúminas, solo pueden producirse por pérdida en la orina (albuminuria), o por falla en la síntesis, en la insuficiencia hepática terminal (9,10).

Los estudios en ratones, demuestran que la albúmina, filtra la membrana basal del glomérulo (11,12,13), y que el 95%, de esta albúmina filtrada, es reabsorbida en los túbulos contorneados proximal y distal; por un sistema de caveolas inducido por angiotensina. El cual, selectivamente, devuelve la albúmina, al lumen endotelial del capilar venoso (14,15).

En la práctica clínica se ha observado, que los pacientes con hipoalbuminemia menor de 2.3 gr/dl. Presentan oliguria y anuria, con retención de productos nitrogenados, y, algunos de ellos requieren diálisis; no obstante la infusión de bolos de 100 cc de macromoléculas como poligelina o manitol, mejoran la diuresis (16, 17).

En base a los antecedentes previos, nos preguntamos. ¿Cuál es el rol de la albúmina en la producción de orina?

El análisis de los datos previos, nos induce a pensar, que contrariamente a los planteamientos que sostienen, que la filtración de albúmina, es una deficiencia de la membrana basal glomerular; impermeable a la albúmina. La membrana basal del glomérulo, está diseñada para permitir la filtración de la albúmina, condición indispensable para la formación de orina.

Se habrá demostrado la hipótesis, si, los estados de hipoalbuminemia, se acompañan de oliguria o anuria, y la reposición de albúmina sérica, mejora la producción de orina.

MATERIALES Y MÉTODOS

Con el objeto de estudiar, si, la oliguria anuria, producida por hipoalbuminemia inducida por desnutrición en ratas, es revertida con la administración de albúmina. Se realizó un estudio experimental doble ciego, de casos y controles.

El estudio, fue realizado en 13 ratas macho (*Rattus norvegicus* cepa *Holtzman*), de 6 a 8 semanas de edad, con un peso entre 150 a 220 gr. Procedentes del bioterio, del Instituto Nacional de Salud; las que fueron trasladadas a los ambientes del Laboratorio de Bioquímica de la Facultad de Medicina, de la Universidad Nacional de Trujillo. Previamente acondicionado a 22 ± 1 ° C, en un ciclo de 12 h luz/oscuridad.

Durante el proceso de aclimatación, cada espécimen fue instalado en una jaula individual diseñada para la recolección de orina durante 24 horas; en donde se las observó durante 7 días, sin ningún tipo de intervención. Con acceso a alimento y agua *Ad libitum*.

Terminado el periodo de aclimatación, se procedió a medir el volumen de orina individual, a las 8.00 y 20.00 horas, durante 6 días; para medir el valor de albúmina sérica se tomaron muestras sanguíneas de la vena coccígea.

El experimento tuvo 3 etapas: 1ª basal: de 6 días, con dieta normo-proteica, normo-calórica, y agua ad libitum. 2ª de restricción proteica: durante 18 días, todos los especímenes recibieron alimentación hipo-proteica, normo-calórica, hasta lograr hipoalbuminemia; manteniendo agua ad libitum. 3ª casos y controles: se forma un grupo de 7 especímenes, **casos**, a las que se administró 12 a 14 microgramos de albúmina al 22%, aforado a 3 cc con solución salina, por vía intraperitoneal, y 6 especímenes **control**, a los que se administró 3 cc de solución salina, intraperitoneal.

Control de sesgo del experimento: A fin de disminuir el sesgo del investigador, los investigadores fueron divididos en 3 grupos, un grupo se ocupó de medir la diuresis, otro grupo tomo la muestra

sanguínea y otro midió la albúmina sérica. Los resultados fueron registrados por separado, en protocolos numerados para cada espécimen; de modo que el grupo de investigadores que maneja resultados de orina, desconocía los resultados de albúmina sérica. El técnico, que determinó los valores de albúmina, desconocía la asignación de la muestra.

Diseño de la muestra: lograda la hipoalbuminemia, se elaboró un balotarío, con 13 números, correspondiente a cada espécimen, se obtuvieron al azar 6 números, los que conformaron el grupo control; los 7 restantes conformaron el grupo experimental.

Toma de la muestra sanguínea: utilizando una lanceta, se pincha la vena coxígea, de la rata, y utilizando micro tubos heparinizados, se obtienen 2 muestras sanguíneas, las cuales son centrifugadas a 2500 rpm.

Determinación de albúmina sérica: se realizó con el método de Wiener, utilizando 10 microlitros de suero, en 1 ml de reactivo, la lectura se realizó con espectro fotómetro.

Recolección de orina: para recolectar la orina, se elaboraron 13 jaulas circulares de 29 cm de diámetro, por 30 cm de alto, con tapa superior. Las jaulas, fueron forradas con malla metálica de 5 mm de cocada. Se elaboró una base metálica circular; con 3 patas de 50 cm de alto. En la cual se fijó un embudo, de 30 cm de boca, cuyo extremo de salida de 1cm, se introduce en un vaso de plástico transparente de 30 cm de volumen. Los desechos sólidos son limpiados cada 12 horas, (8.00 am y 8.00pm), momento en que se mide la orina con una jeringa de plástico de 10 cm . Integrando el volumen diario a las 8.00 am.

Albúmina: Se utilizó albúmina sérica bovina al 22% factor V de 10mL (Biochile^R), obtenida del Laboratorio Biotec. Mantenedas en un rango de temperatura de 2-8°C.

Inducción de Hipoalbuminemia: Se utilizó, un modelo nutricional de restricción proteica cuantitativa; caracterizada por una reducción al 25%, de las proteínas de la dieta normal de la rata⁸,

cada espécimen recibió una ración diaria de 10 gr (8,6 gr de avena + 1,25 g mantequilla); 50 calorías con 1,29 gr de proteínas por día. Este método permitió alcanzar hipoalbuminemia (< 2,3 gr/dl de albúmina sérica).

Administración de Albúmina intraperitoneal: la cantidad de albúmina a administrar, es individualizada para cada espécimen, con la siguiente formula $\frac{0,00218 \times P \times Q}{g.peso \times \frac{g}{dl} perdido}$, en donde P: representa el peso en gramos del espécimen, Q: representa el déficit de albúmina en Gr/dl. Que en promedio fue de 12 a 14 microgramos de albúmina, (0,4 a 0,6 ml de la solución de albúmina al 22%), el cual es aforado a 3 cc con solución salina.

Principios éticos. En cumplimiento de las recomendaciones, para investigación en animales. Terminado el experimento. Se restituyó el alimento en cantidad y calidad; 5 especímenes fueron donados para un estudio de farmacología; los 8 restantes fueron adoptados como mascotas. De acuerdo a las directrices, de la Asociación Peruana de Protección a los Animales (ASPPA) y la Ley peruana N° 27265, de protección a los animales domésticos y a los animales silvestres sometidos en cautiverio⁷, en el marco del Consejo Canadiense de los Animales (CCPA), de 1998. Manual sobre de cuidado y uso de los animales de experimentación. Aprobado por el comité de ética, del comité permanente de investigación, de la facultad de medicina-UNT (anexo2).

Registro y análisis de los datos. A cada uno de los especímenes, se les asigno un número del 1 a 13, el cual fue rotulado para cada jaula. Se elaboraron hojas de registro numeradas, diseñadas para registrar la diuresis y la albúmina sérica. De modo que se reduzca el sesgo del investigador. Los datos se presentan en tablas y figuras. El análisis de las diferencias se realizó con el método t de student para promedios.

RESULTADOS

(Tabla 1), los especímenes presentaron oliguria. La cual fue corroborada estadísticamente con un P altamente significativo ($p < 0.001$), demostrando que la desnutrición, provoca hipoalbuminemia y reducción del volumen urinario.

Tabla 1. Comparación de la diuresis (ml) antes y después de la desnutrición.

Parámetros	MB (n=13)	MD (n=13)	MB-MD (n=13)
Media	4,4569	1,0438	3,41308
Desviación típ.	1,38416	0,41319	1,24966
Error típ. de la media	0,38390	0,11460	0,34659
t_{12}			9,847
P			< 0,001

MB: medición basal de orina; MD: medición, en desnutrición, de orina. Datos obtenidos del laboratorio de Bioquímica de la Facultad de Medicina de la UNT.

En la tabla 2 se muestran los valores de diuresis después de la reposición de albúmina por vía intraperitoneal; demostrando que el promedio de orina por día en el grupo experimental, es 3 veces mayor que el grupo control; con un $P < 0,01$ que nos indica que las diferencias son estadísticamente significativas, mostrando una relación directa entre la reposición de albúmina y el incremento en la diuresis de la rata.

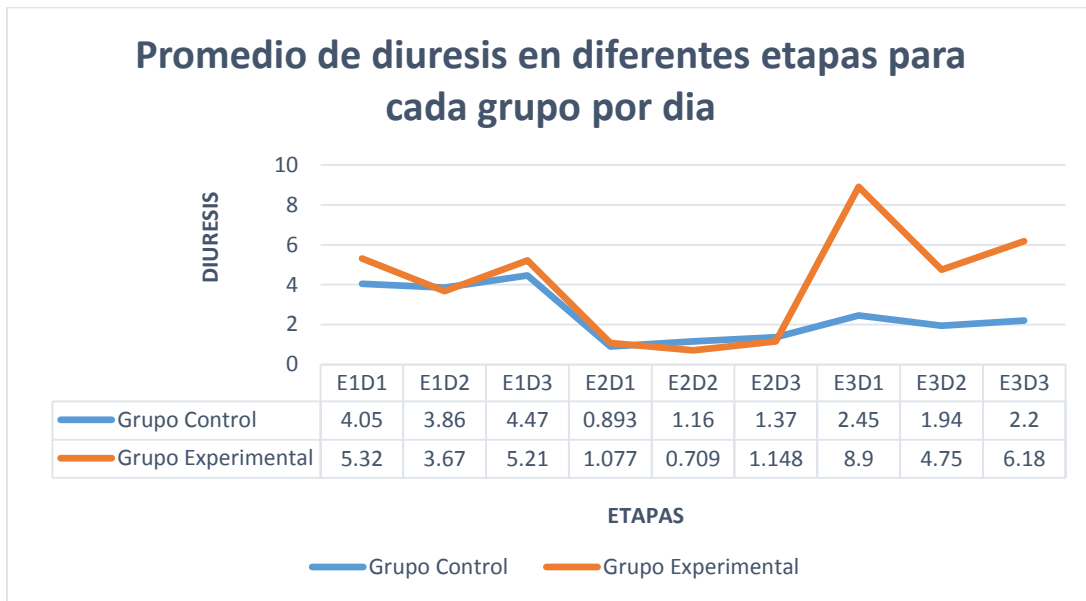
Tabla 2. Comparación de la diuresis (ml) en ratas después de la administración de albúmina y suero salino.

Parámetros	Grupo control (suero salino)	Grupo experimental (albúmina)
Muestra	6	7
Promedio	2,000	6,187
Desviación estándar	0,443	2,802

$t_6 = 3,8971$; $p = < 0,01$ Datos obtenidos del laboratorio de Bioquímica de la Facultad de Medicina de la UNT.

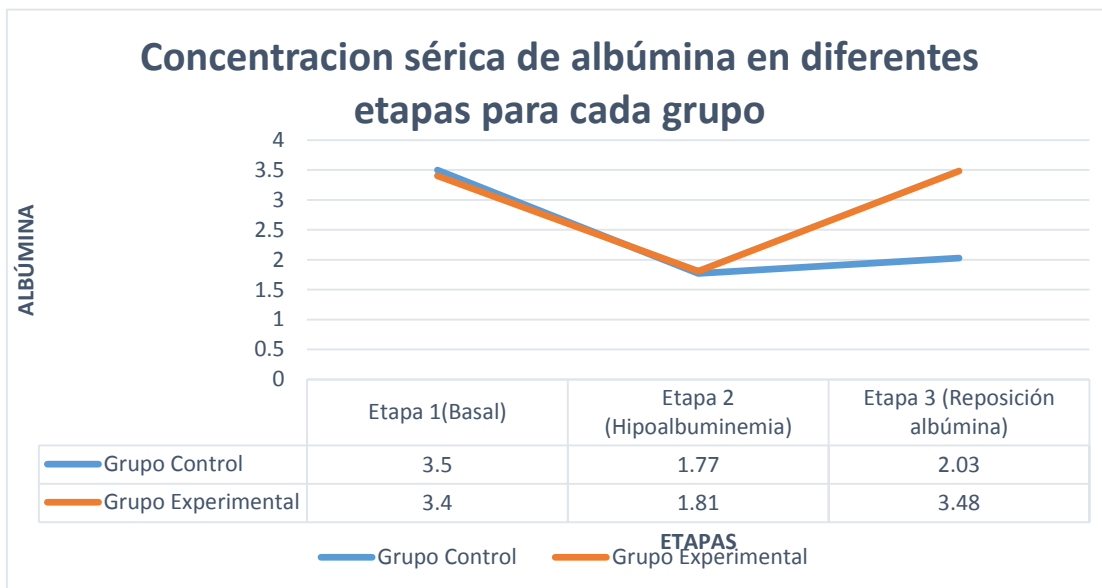
Las figura 1 y 2. Muestran el comportamiento de las 2 variables en estudio, la diuresis a lo largo del experimento se presenta en la figura 1. La figura 2 muestra el comportamiento de la albumina sérica. Mostrando que la diuresis disminuye con la hipoalbuminemia y aumenta 3 veces, por efecto de la reposición de albúmina.

Gráfica 1. Promedio-Diuresis (ml) en diferentes etapas para cada grupo.



Datos obtenidos del laboratorio de Bioquímica de la Facultad de Medicina de la UNT. ExDx: Día por etapa

Gráfica 2. Concentración sérica de albúmina (g/dl) en diferentes etapas para cada grupo.



Datos obtenidos del laboratorio de Bioquímica de la Facultad de Medicina de la UNT.

DISCUSIÓN

Los resultados obtenidos en este estudio indican, que la concentración de albúmina sérica en rangos normales, juega un papel fundamental en la producción de orina, y por ende en la función renal normal. Lo cual solo puede ocurrir si la membrana glomerular es permeable a la albúmina; que corresponde a un nuevo paradigma, de filtración glomerular de la albúmina (12). Lo cual implica, revalorar la teoría de presión y comportamiento de los fluidos, planteada por Frank Starling (3) y el efecto Donan que describe el comportamiento de los líquidos y solutos frente a una membrana. Y, refuta la teoría de filtración selectiva y de selectividad por cargas, que sostienen la filtración selectiva de agua y iones. Que sustentan el paradigma clásico, de impermeabilidad a la albúmina de la membrana glomerular renal.

La teoría de permeabilidad selectiva plantea que la membrana glomerular, tiene poros que impiden el paso de moléculas mayores a 70 000 Dalton; pues bien la albúmina pesa 64 000 Dalton. Menos que el punto de corte de impermeabilidad. Esto sugiere que la albúmina filtra la membrana glomerular. Esta limitación mecánica, fue mejorada con la tesis electromecánica; de modo que una capa de polilucanos, otorga carga negativa a estos poros, lo que les permite rechazar las moléculas de igual carga como la albúmina. Paradigma que orienta la comprensión de la fisiología y patología renal. Con el cual la presencia de proteinuria (albúmina en orina), es considerada una alteración de la filtración, por defecto de la función de barrera, de la membrana glomerular (6).

Según este paradigma enfermedades como el síndrome nefrótico, se clasifica en: cambios mínimos, referida a aquella condición en que la membrana glomerular esta conservada y tiene buena respuesta al tratamiento. Y la membrana proliferativa de mal pronóstico y baja respuesta terapéutica.

El paradigma de impermeabilidad de la membrana glomerular, plantea que en el glomérulo existe filtración selectiva de agua y iones; si esto ocurriría, en el extremo aferente del glomérulo, toda el agua se filtraría a la capsula de Bowman; haciendo del contenido vascular una sangre espesa, viscosa.

Que haría imposible la circulación. De igual manera el agua filtrada al espacio de Bowman, retornaría al lumen vascular por efecto de la presión oncótica intraluminal. Sería materialmente imposible el proceso de concentración en los vasos rectos, efecto contracorriente (3). Los estudios de Comper y Russo y otros demuestran que a nivel de la cápsula de Bowman, se produce la orina primaria, cuya composición es similar al plasma; del cual el 95% de la albúmina filtrada es reabsorbida por un mecanismo de caveolas, en los tubos colectores. Mecanismo que es inducido y regulado por angiotensina sin gasto de ATP. Que es el camino más eficiente y de menor costo energético, acorde a los procesos de selección de la teoría evolutiva (5,16).

En este marco, el presente trabajo plantea: que la membrana glomerular ha sido diseñada para permitir la filtración de la albúmina, la misma que al pasar arrastra agua y solutos. Permitiendo un estado de fluidez en el lumen capilar glomerular. Haciendo posible la función de filtración y dando inicio a la función de concentración del glomérulo; lo que concuerda con los hallazgos de Ruso y otros investigadores, que demuestran que la albúmina, filtrada en la orina primaria es reabsorbida en los tubos colectores.

Los resultados obtenidos en la etapa de restricción proteica, muestran que al disminuir la concentración de albúmina sérica, disminuye la diuresis en todos los especímenes. Con un índice de correlación de 1, que nos indica que esta asociación es general para todos los especímenes. Esto concuerda con las observaciones, en el campo clínico; de pacientes pre eclámpicas con oliguria, cuya diuresis se incrementa, cuando se administra una solución con 20 a 30 gr de albúmina. Lo que nos sugiere que el comportamiento de la albúmina sérica y la diuresis en la rata, es similar al que ocurre en otras especies.

Y que se corresponde con los hallazgos de nuestro experimento, en el que encontramos que la producción de orina por día disminuye, cuando la albúmina sérica disminuye, con un $P < 0.001$; que indica una fuerte asociación, entre la hipoalbuminemia y la diuresis. Lo cual representa,

disminución de filtrado de albúmina, a nivel del glomérulo, con la consecuente disminución de paso de agua hacia el espacio de Bowman. Que demuestra la importancia de la filtración de albúmina a través de la membrana glomerular, para la producción de orina.

Cabe destacar, que el método utilizado, para llegar al estado de hipoalbuminemia, mediante desnutrición (9); no fue el más acertado. Debido a que la concentración de albúmina sérica no es el único factor que disminuye; sin embargo en la etapa de reposición de albúmina sérica en las ratas, la administración de una solución de albúmina sérica bovina al 22% fue el único factor que se modificó, y los resultados obtenidos en esta etapa mostraron un aumento significativo de la diuresis en el grupo experimental con respecto al grupo control. Tal como ha sido demostrado por Phakdeekitcharoen y Boonyawat¹⁶ quienes reportan que la acción combinada de albúmina y furosemida, aumenta el efecto diurético. En comparación con la administración de furosemida sola, en pacientes hipoalbuminémicos con enfermedad renal crónica (17).

En la gráfica 1, se observa que existe un pequeño aumento en la diuresis del grupo control, el cual es producido, por el aumento de volumen sanguíneo y de la presión sanguínea, en relación al líquido administrado, un aumento de la diuresis por el fenómeno llamado diuresis por presión (3), aunque menores que los observados en el grupo experimental.

Los estudios, diseñados para demostrar la correlación, entre la concentración de albúmina sérica y la producción de orina. Muestran que el coeficiente de filtrado glomerular para albúmina es de 0,0006 a 0,034, dependiendo del método empleado de 2 fotones o micro puntura renal (18). Que representa: la fuerza de arrastre que ejerce la albúmina, sobre el agua. Para pasar la membrana glomerular.

Los experimentos de Comper y Russo, demuestran que no existe una selectividad por cargas en la barrera de filtración glomerular en procesos fisiológicos normales (5) mientras que otros estudios revelan que durante la filtración, el dextran sulfato es desulfatado y no se une a la albúmina¹⁹. Ratones con déficit genético, para producir heparan sulfato; no presentan albuminuria (19).

Estudios recientes, demuestran que la albúmina en condiciones fisiológicas, es reabsorbida por endocitosis a nivel del túbulo proximal en un 95 % y solo el 5% restante sufre degradación lisosomal y es excretada por la orina¹⁵⁻¹⁸. Reconociendo que la endocitosis de la albúmina, es fundamental para el mecanismo de reabsorción de agua en el túbulo proximal; el cual inicia el proceso de concentración contra corriente (16). Los estudios de albúmina marcada con yodo, muestran que: la albúmina filtrada en la orina primaria, es degradada y excretada por la orina en un 98 %, y solo 2% se reabsorbe (16). Ambos resultados están de acuerdo en que la albúmina filtra la membrana glomerular.

Según la teoría falsacional (20), un paradigma es falsado, cuando surge otro que explica mejor un fenómeno. O le permite predecir el comportamiento de una variable que no puede ser explicado por el paradigma previo. En este marco nosotros sostenemos que el nuevo paradigma, que explica la función renal. Es el de permeabilidad de la albúmina en la membrana glomerular. Proceso indispensable para la formación de orina.

Se concluye que los niveles de albúmina sérica influyen en la producción de orina y la permeabilidad de la membrana glomerular a la albúmina es una condición indispensable para la filtración y producción de orina y facilitar la función renal. Se recomienda que en el marco del nuevo paradigma de permeabilidad glomerular a la albúmina, se deben revisar, la clasificación y protocolos terapéuticos, de las enfermedades que cursan con albuminuria Y considerar la administración EV de albúmina u otras macromoléculas con capacidad de filtrar en la membrana glomerular, para el manejo de los pacientes con oliguria/anuria para evitar el taponamiento renal y disminuir la necesidad de hemodiálisis.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1) Evans T W. Review article: Albumin as a drugbiological effects of albumin unrelated to oncotic pressure. *Aliment Pharmacol Ther.* 2002; 16 (Suppl 5): 6-11.
- 2) Pacheco S, et al. Albúmina en el paciente crítico: ¿Mito o realidad terapéutica?. *Rev Chil Pediatr* 2007; 78(4): 403-413.
- 3) Guyton C, Hall A. *Tratado de fisiología médica*. 12 ed. España: Elsevier; 2011.
- 4) Jarad G, Miner J. Update on the glomerular filtration barrier. *Curr Opin Nephrol Hypertens.* 2009; 18(3): 226–232.
- 5) Russo LM, Comper WD, Sandoval RM, McKee M, Osicka TM, Collins AB, et al. The normal kidney filters nephrotic levels of albumin retrieved by proximal tubule cells: Retrieval is disrupted in nephrotic states. *Kidney International.* 2007; 71: 504-513.
- 6) Tagle R, González F, Acevedo M. Microalbuminuria y excreción urinaria de albúmina en la práctica clínica. *Rev Med Chile.* 2012; 140:797-805.
- 7) Rodríguez E. Desafíos éticos de la manipulación genética y la investigación con animales. *Rev Perú med exp salud pública* 2012; 29 (4): 535 – 540.
- 8) Generalidades para el desarrollo de los trabajos de laboratorio manejo de animales de experimentación (base de datos en línea). Colombia: Universidad Nacional de Rosario; 2012. (fecha de acceso 07 de abril de 2014). URL disponible en: <http://fisiologiafarmacia.wikispaces.com/file/view/laboratorios2012.pdf>.
- 9) Merino M, Catalán A, Nácher A, Miralles S, Jiménez N. Animal model of under nutrition for the evaluation of drug pharmacokinetics. *Nutr Hosp* 2011; 26(6): 1269- 1304.
- 10) González M, Vicuña N. Modificación de enzimas hepáticas en ratas desnutridas tratadas con acetaminofén. *Gac Méd Méx* 2003; 139 (5): 429-433.
- 11) Jones RB, Dilks RA, Nowell NW. A method for the collection of individual mouse urine. *Physiology and Behavior* 1973; 10: 163-164.

- 12) Condado Arenas, Pascual Macfú. Nueva teoría sobre la filtración glomerular de albúmina y su reabsorción tubular: refutado de la teoría de la “selectividad por cargas”. *RevMex Uro* 2013; 73(4): 191-194.
- 13) Tojo A, Endou H. Intrarenal handing of proteins in rats using fractional micropuncture technique. *AJP Renal Physiol* 1992; 295: 601-606.
- 14) Gudehithu KP, Pegoraro AA, Dunea G. Degradation of albumin by the renal proximal tubule cells and the subsequent fate of its fragments. *Kid Int* 2004; 65:2113-2122.
- 15) Comper WD, Russo LM, Hilliard LM, Nikolic-Paterson DJ. Disease-dependent mechanism of albuminuria. *Am J Physiol Renal Physiol* 2008; 295: F1589-F1600.
- 16) Phakdeekitcharoen B, Boonyawat K. The Added-up albumin enhances the diuretic effect of furosamide in patients with hypoalbuminemic chronic kidney disease: a randomized controlled study. *BMC Nephrology* 2012; 13 (92).
- 17) Doungngern T, Huckleberry Y, Bloom J, Estard B. Effect of albumin on Diuretic response to furosemide in Patients with Hypoalbuminemia. *Am J Crit Care* 2012; 21:280-286.
- 18) Tanner GA. Glomerular sieving coefficient of serum albumin in the rat: a two photon microscopy study. *Am J Physiol Renal Physiol* 2009; 296: F1258-F1265.
- 19) Burne MJ, Adal Y, Cohen N, Panagiotopoulos S, Jerums G, Comper WD. Anomalous decrease in dextran sulfate clearance in the diabetic rat kidney. *Am J Physiol Renal Physiol* 1998; 274: F700 – F708.
- 20) Lopez Mato AM. Introducción epistemológica al estudio de paradigmas. Psiconeuroinmunoendocrinología II. Nuevos dilemas para viejos paradigmas, Viejos dilemas para neoparadigmas. 2004:73.**