



Facultad de Medicina y Ciencias de la Salud

Carrera de Medicina

Trabajo Final

Desarrollo de un modelo experimental de fibrosis

inducida por obstrucción ureteral unilateral

(OUU) en ratones del Bioterio de la UAI- sede

Rosario, año 2023

Alumna: Camila Escobar

Tutora: Dra. Marina C. Vera

Co-tutor: Dr. Ariel D. Quiroga

Co-tutora: Dra. Marcela E. Trapé

Rosario - 2023

ÍNDICE

Contenido	
ÍNDICE DE ABREVIATURAS.....	2
RESUMEN.....	3
INTRODUCCIÓN	4
MARCO TEÓRICO.....	6
OBJETIVOS.....	12
MATERIAL Y MÉTODOS	13
Diseño.....	13
Ámbito.....	13
Población	13
Muestreo y tamaño muestral.....	13
Procedimiento	13
Definiciones	15
Variables.....	15
Análisis estadísticos	15
Consideraciones éticas	15
RESULTADOS	15
DISCUSIÓN.....	21
LIMITACIONES	26
CONCLUSIONES	27
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	28
ANEXOS.....	31

ÍNDICE DE ABREVIATURAS

CICUAL: comité institucional para el cuidado de animales de laboratorio

ERC: enfermedad renal crónica

IRA: insuficiencia renal aguda

O UU: obstrucción ureteral unilateral

ppmh: pacientes por millón de habitantes

RCO UU: riñón contralateral sin obstrucción

RO UU: riñón con obstrucción

RESUMEN

Introducción: Comprender los mecanismos que rigen la fibrosis renal es crucial debido a que se trata de una vía final común para la mayoría de las formas de enfermedad renal crónica (ERC), dentro de las mismas, la nefropatía obstructiva es una entidad muy frecuente y su evolución a insuficiencia renal aguda y a ERC implica la necesidad de contar con modelos de estudio adecuados.

El modelo de obstrucción ureteral unilateral (OUU) en ratones demostró ser útil para estudiar la progresión de la nefropatía obstructiva hacia la fibrosis renal, sin embargo, esta cirugía no ha sido llevada a cabo en el laboratorio de la UAI.

Objetivo general: Establecer un modelo experimental de fibrosis inducida por OUU en ratones.

Material y métodos: Se utilizaron ratones hembra adultas de la línea C57BL/6J, las cuales fueron sometidas a un procedimiento quirúrgico durante el cual el uréter izquierdo fue doblemente ligado con seda quirúrgica y luego cortado entre ambas ligaduras. Luego de 2 semanas se evaluó el daño renal: bioquímicamente, mediante la medición de los valores de urea en plasma utilizando kits comerciales (Wiener lab); e histológicamente, mediante la realización de secciones de tejido renal embebidos en parafina y su posterior tinción con hematoxilina-eosina y con Picrosirius Red.

Resultados: Tres ratones completaron el procedimiento y todos presentaron cambios macroscópicos, pudiendo evidenciarse hidronefrosis. El 100% de los riñones hidronefróticos presentaron cambios histológicos tales como dilatación pielocalicial, aplanamiento del urotelio, túbulos dilatados y fibrosis, en comparación con los riñones contralaterales no obstruidos y con los riñones del grupo sham.

Conclusión. En este trabajo se demostraron cambios morfológicos tanto macroscópicos y microscópicos en el riñón izquierdo cuyo uréter fue intervenido. El modelo de desarrollo de fibrosis por OUU realizado en este estudio es factible, reproducible y de utilidad para el estudio de patologías renales obstructivas.

Palabras clave: *riñón, fibrosis, OUU, nefropatía obstructiva, modelo experimental*

INTRODUCCIÓN

La enfermedad renal crónica (ERC) es uno de los principales problemas de salud pública a nivel mundial, con una prevalencia global del 9,1% (aproximadamente 697,5 millones de casos), provocando 1,2 millones de muertes anuales. Según los datos estadísticos entre 1997 y 2019, la prevalencia experimentó un aumento del 29,3 %, mientras que la incidencia de diálisis y trasplante renal también se elevó en un 32,8% y un 21,6%, respectivamente [1, 2]. Estas estimaciones ponen de manifiesto la necesidad de mejorar la evolución de los pacientes con ERC y la importancia de encontrar un tratamiento específico. El desarrollo de fibrosis renal es una de las características más importantes de los cambios biológicos y patológicos en sujetos con ERC, dado que numerosos mecanismos que conllevan a la acumulación de matriz extracelular se exponen en esta condición [1-5]. La nefropatía obstructiva es una entidad clínica muy común [6], que puede tener consecuencias irreversibles a largo plazo: puede causar insuficiencia renal o interferir con la maduración renal [7]. Asimismo, la nefropatía obstructiva puede provocar una insuficiencia renal aguda (IRA) o una ERC [8, 9]. La ERC implica la disminución progresiva de la función renal y la alteración de la estructura renal que dura más de tres meses [10]. La ERC se caracteriza por la pérdida de células renales epiteliales y su sustitución por matriz extracelular, tanto en los glomérulos como en los túbulos y el intersticio renal, proceso conocido como fibrosis [10].

El modelo animal de obstrucción ureteral unilateral (OUU) demostró ser útil para estudiar la progresión de la nefropatía obstructiva hacia fibrosis renal definitiva [11]. En este modelo, se han descrito varios eventos como dilatación tubular, la muerte de células epiteliales, la pérdida de masa tubular proximal, la infiltración de leucocitos, el estrés oxidativo y la inducción de la inflamación, que conducen a glomerulosclerosis y finalmente a la fibrosis intersticial. Aunque este modelo tiene ciertas limitaciones y no puede adaptarse a todos los tipos de ERC, el mismo sigue siendo muy utilizado dado que es un procedimiento relativamente corto con alto grado de similitud al proceso obstructivo en humanos [12].

Lo expuesto pone de manifiesto la necesidad de contar con modelos adecuados para el estudio de la enfermedad renal. Al respecto, un amplio soporte bibliográfico pone de manifiesto la importancia de los modelos de OUU en animales de laboratorio, específicamente en roedores [10, 12, 13-15]. Sin embargo, en el laboratorio de la UAI, la cirugía obstructiva no ha sido realizada aún. Es por ello, que en el presente proyecto se

plantea poner a punto la realización de la cirugía obstructiva ureteral unilateral en ratones de la línea C57BL/6J del bioterio de la Universidad Abierta Interamericana. Se propone la siguiente hipótesis: *ratones hembra adultas de la línea C57BL/6J desarrollan fibrosis luego de la cirugía obstructiva ureteral unilateral.*

En este sentido, se plantea la siguiente pregunta de investigación: ¿cómo incide la cirugía obstructiva ureteral unilateral en la fibrosis renal de ratones hembra adultas de la línea C57BL/6J del Bioterio de la UAI - sede Rosario?

MARCO TEÓRICO

Los riñones son órganos pares del sistema urinario que se encuentran situados retroperitonealmente dentro de la cavidad abdominal, a ambos lados de la columna vertebral. Se describe su forma como de poroto en la que su lado cóncavo se sitúa hacia la línea media. El centro de esta parte cóncava se denomina hilio y es el lugar de entrada y salida de vasos sanguíneos, nervios y vasos linfáticos, además de la parte inicial del sistema de transporte de orina, el uréter, todo lo que constituye la llamada pelvis renal (Figura 1).

Cada riñón está envuelto por una cápsula de tejido conjuntivo fibroso, rodeada por tejido adiposo, la grasa perirrenal y una envoltura de tejido conjuntivo llamada fascia renal, que lo ancla a las estructuras adyacentes.

En un corte sagital pueden distinguirse dos zonas diferenciadas: una parte externa denominada corteza y una parte interna denominada médula (Figura 1). De la corteza surgen unas proyecciones que se introducen en la médula denominadas columnas de Bertini y en ella se encuentra el 75% de las estructuras que constituyen las unidades morfo-funcionales de los riñones y que se denominan nefrones.

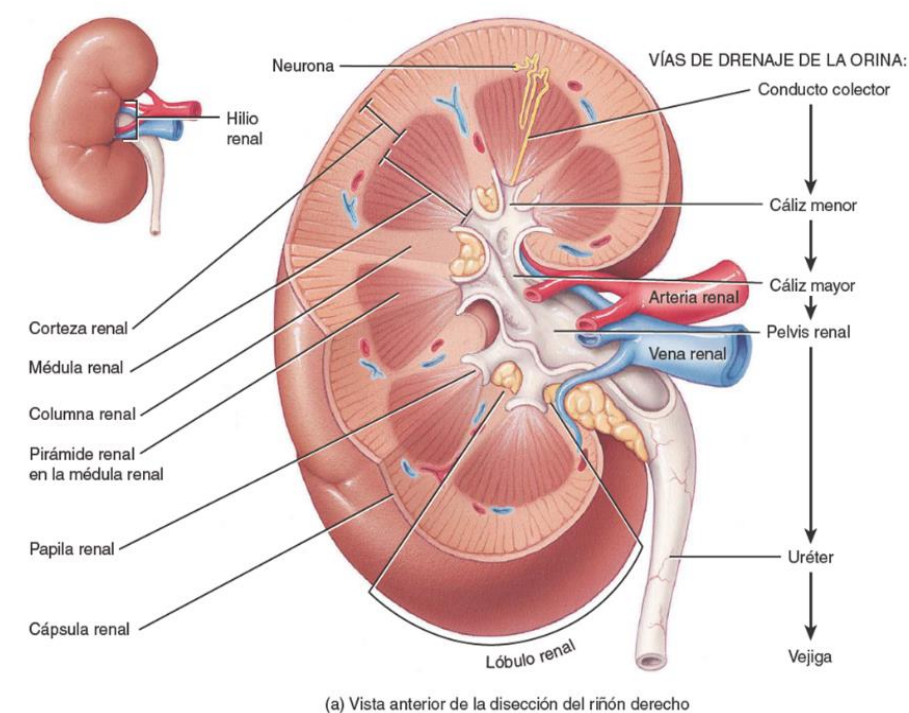


Figura 1: Corte de un riñón humano. Principios de Anatomía y Fisiología. Tortora-Derrickson. 13a Ed (2006).

La médula renal está compuesta por entre 8 y 18 pirámides renales o pirámides de Malpighi ocupadas fundamentalmente por segmentos paralelos rectos de túbulos renales. La porción más distal de estos túbulos, denominados conductos colectores mayores, va a desembocar a los extremos de una papila perforándola y originando el área cribosa papilar [16]. La papila de cada pirámide protruye en una estructura a modo de copa, denominada cáliz menor. Un conjunto de cálices menores se agrupa para formar un cáliz mayor, a su vez se une con otros cálices mayores para desembocar, a modo de embudo, en la pelvis renal. Desde la pelvis renal inician los uréteres.

Histología renal

El nefrón (o la nefrona) es la unidad morfo-funcional del riñón y es el encargado de formar la orina. Cada nefrón está formado por dos componentes principales: el corpúsculo renal y el sistema tubular. El corpúsculo renal está constituido por una estructura esférica hueca de doble pared epitelial llamada cápsula de Bowman que en su interior alberga una red de asas capilares denominada glomérulo. El sistema tubular está formado por el túbulo proximal (con una porción contorneada y otra recta), el asa de Henle (con dos porciones, descendente y ascendente), el túbulo distal (con sus porciones recta y contorneada) y los túbulos colectores.

La morfología exacta de los nefrones variará según la posición relativa del corpúsculo dentro de la corteza, clasificándose de esta manera como superficiales, intermedios y yuxtamedulares, siendo el asa de Henle de éstos últimos la que más profundamente penetra en la médula mientras que en los superficiales no existe porción descendente estrecha del asa de Henle [16]. (Figura 2).

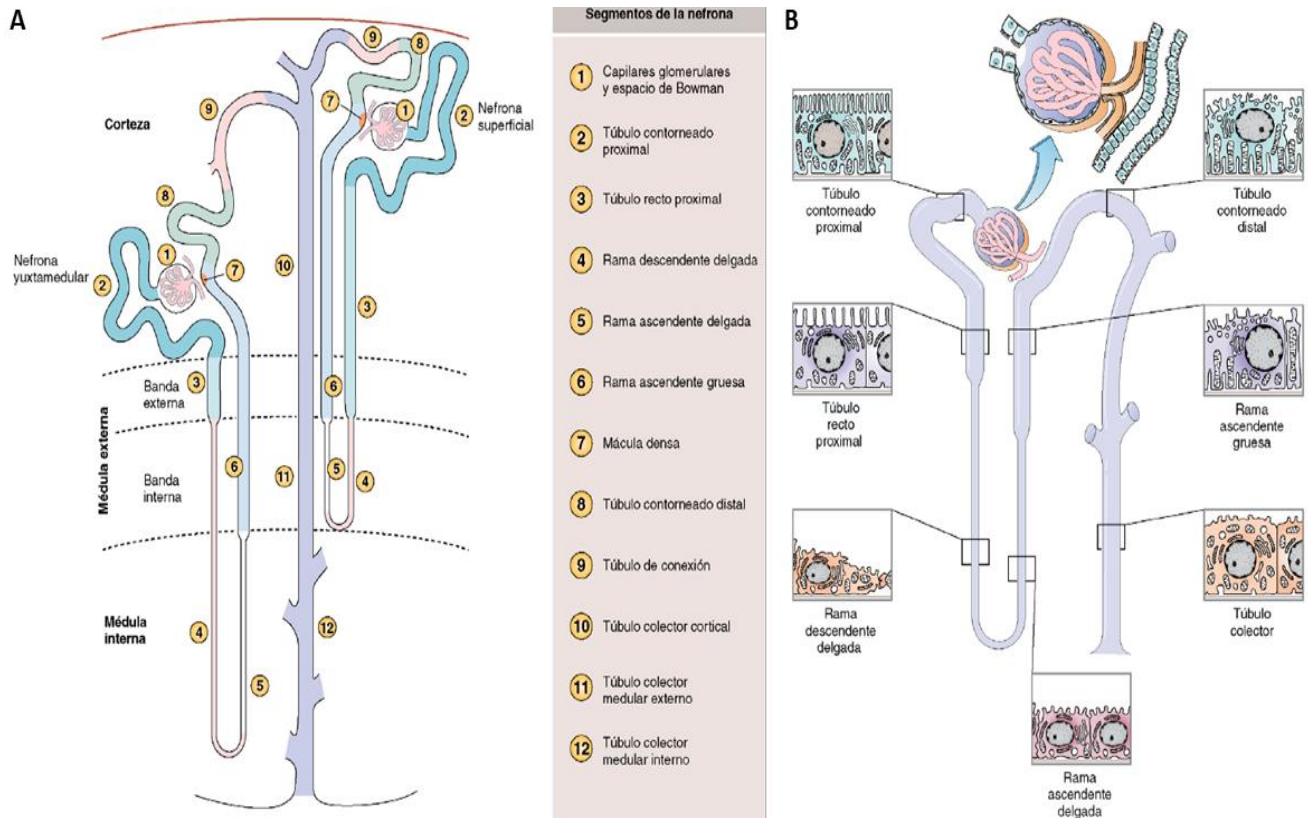


Figura 2. Estructura del nefrón y sus relaciones con las zonas del parénquima renal.

A) Nefrón yuxtamedular (izquierda) y nefrón cortical (derecha). B) Componentes del nefrón y morfología celular. Esquema extraído y modificado de Fisiología. Linda Constanzo. 4ta Ed (2011).

Enfermedad renal crónica (ERC)

La ERC es una enfermedad progresiva sin cura y con alta morbilidad y mortalidad que se presenta comúnmente en la población adulta en general, especialmente en personas con diabetes e hipertensión, aunque existen otras poblaciones y causas. La ERC es considerada uno de los principales problemas de salud pública a nivel mundial. Se define típicamente como una reducción en la función renal, con una tasa de filtración glomerular estimada de menos de 60 mL/min por 1,73 m²; o marcadores de daño renal, como albuminuria, hematuria, o anomalías detectadas a través de pruebas bioquímicas de laboratorio o imágenes y que estén presentes durante al menos 3 meses [17].

Estructuralmente, la ERC se caracteriza por la pérdida de células renales epiteliales y su sustitución por matriz extracelular tanto en los glomérulos como en los túbulos y el intersticio renal [18].

Como se dijo anteriormente, la ERC tiene una prevalencia global del 9,1% (aproximadamente 697,5 millones de casos), provocando 1,2 millones de muertes

anuales. Se estima que para el año 2040, la ERC se convertirá en la quinta causa de muerte a nivel mundial [17]. Según datos estadísticos entre 1997 y 2017, la prevalencia experimentó un aumento del 29,3 %, mientras que la incidencia de diálisis y trasplante renal también se elevó en un 32,8% y un 21,6%, respectivamente [1,2]. En Argentina, se desconoce la prevalencia cierta de ERC debido a la ausencia de una investigación epidemiológica en escala. Sin embargo, los datos de relevamientos indirectos la encuadran en valores que van desde un 4,8% a un 17% según el contexto [19], alcanzando a 1 de cada 3 personas que refieran algún tipo de comorbilidad [20, 21]. Según datos del INCUCAI, 2017, en Argentina existen unos 664 pacientes por millón de habitantes (ppmh) en diálisis, con una incidencia anual proyectada a 2017 de 138 ppmh, con diferencias entre provincias y regiones sanitarias. Estas estimaciones ponen de manifiesto la necesidad de mejorar la evolución de los pacientes con ERC y la importancia de encontrar un tratamiento específico [22].

La etiología de la ERC varía considerablemente según la región, la raza y la edad [23, 24]. Entre las numerosas causas de ERC se encuentran la diabetes, la hipertensión, la glomerulonefritis, las enfermedades renales quísticas y obstructivas, el reflujo vesicoureteral, la nefritis intersticial y la infección renal recurrente [2, 17]. Todas ellas, inducen inflamación, estrés oxidativo, daño microvascular y trastornos metabólicos, entre otros trastornos que dañan el tejido renal con la consecuente pérdida progresiva de la función [25-30].

Se ha informado que la ERC induce múltiples complicaciones que incluyen edemas, anemia, trastornos en el equilibrio electrolítico y enfermedad cardiovascular, daño nervioso, óseo y muscular y disminución de la respuesta inmunitaria, todo lo cual conduce a una reducción de la calidad de vida e incluso a la muerte [31].

Fibrosis renal

La fibrosis renal es el sello distintivo en la progresión de la ERC; sin embargo, en la actualidad no existen terapias antifibróticas exitosas [32]. Aunque el depósito de colágeno es una parte indispensable y, por lo general, reversible de la cicatrización, la reparación tisular normal puede evolucionar hacia una respuesta fibrótica progresivamente irreversible si la lesión tisular es grave o repetitiva, o si la respuesta de cicatrización en sí se desregula. La fibrosis se define por la acumulación excesiva de tejido conjuntivo fibroso dentro y alrededor del tejido inflamado o dañado, lo que puede provocar cicatrices permanentes, mal funcionamiento de los órganos y, en última instancia, la muerte [33].

Existe un vínculo fisiopatológico entre los procesos inflamatorios y fibróticos relacionados con la morbilidad en la falla renal. Los hallazgos anatomopatológicos de la fibrosis renal se caracterizan por glomeruloesclerosis, fibrosis tubulointersticial, infiltración inflamatoria, y la pérdida de parénquima renal caracterizado por atrofia tubular, pérdida capilar y agotamiento podocitario [34]. Por ello, la fibrosis renal es considerada un sello distintivo relacionado con la progresión de la ERC [35]. Por lo expuesto, se concluye que indefectiblemente la presencia de fibrosis conllevará a la etapa final de la ERC; por lo que, en este estadio se requiere de terapias de reemplazo como el trasplante renal y/o la diálisis, por lo cual se genera una gran carga financiera para el paciente y para la sociedad en términos de recursos médicos públicos [36].

Nefropatía obstructiva

La nefropatía obstructiva es también un problema de salud muy importante en el mundo, que se puede catalogar como una lesión secundaria a la IRA. Es un evento frecuente que puede explicarse en alrededor del 10% de todos los casos de IRA [37] y en un 22% de sujetos de edad avanzada [38]. Se ha establecido que la nefropatía obstructiva está relacionada con la progresión hacia la ERC. Un trastorno obstructivo muy común se observa cuando se presentan cálculos renales. Los pacientes con este tipo de obstrucción presentan un 68% de probabilidades de desarrollar una ERC [39]. Un gran estudio de cohorte histórica, basado en la población realizado por Hippisley-Cox et al. demostró que las mujeres que formaban cálculos renales tenían un 27% más de riesgo de desarrollar ERC moderada o grave [40]. Por otra parte, Stankus et al. demostraron que la prevalencia de cálculos renales antes de la etapa terminal de la enfermedad renal en pacientes afroamericanos en hemodiálisis, es significativamente más alta que la prevalencia de cálculos renales en personas afroamericanas sanas [41]. Por lo tanto, a modo de resumen y basados en el extenso aporte bibliográfico al respecto, se concluye que la nefropatía obstructiva es una entidad clínica muy común [7], que, dependiendo del tipo y el tiempo de obstrucción, puede provocar una IRA o incluso una ERC [8, 42], con las consecuencias irreversibles a largo plazo ya descritas.

Modelo de OUU

Se contempla que la progresión de la ERC es irreversible y conduce a insuficiencia renal caracterizada por fibrosis renal generalizada [43]. Desde una perspectiva simplista, la fibrosis se trata del resultado de la acumulación excesiva de matriz extracelular y su

patogénesis representa un proceso fallido de reparación en el tejido renal después de una lesión crónica sostenida [44].

La ablación renal quirúrgica en animales se ha utilizado durante más de 50 años para modelar los trastornos renales progresivos, siendo el glomérulo el foco de investigación durante muchos años, posteriormente se ha avanzado en el estudio de las lesiones tubulares e intersticiales, en concreto, durante la década de 1970, se descubrió que la OUU en conejos provocaba la expansión de fibroblastos intersticiales renales y posterior transformación en miofibroblastos [7, 45].

Los modelos animales de OUU han sido ampliados y mejorados desde entonces para comprender la patogenia de la nefropatía obstructiva y los factores que contribuyen a la fibrosis renal progresiva. Si bien los primeros estudios sobre los efectos renales de la OUU se realizaron en conejos y perros, la mayoría de las investigaciones actuales se realizan en ratas y ratones [7, 46].

El modelo se ha utilizado para investigar una variedad de aspectos de la inflamación y la cicatrización renal, como la patogenia de la enfermedad y la prueba de posibles terapias antiinflamatorias o antifibróticas [47].

OBJETIVOS

Objetivo general:

-Establecer un modelo experimental de fibrosis inducida por obstrucción ureteral unilateral (OUU) en ratones.

Objetivos específicos:

- Verificar el establecimiento de fibrosis por OUU en ratones C57BL/6J.
- Determinar histológicamente el daño renal producido por la OUU en ratones.
- Determinar bioquímicamente el daño renal producido por la OUU en ratones.

MATERIAL Y MÉTODOS

Diseño

Se realizó un estudio de tipo cuantitativo, analítico, experimental y prospectivo, el cual tuvo una duración de 3 meses. El período de estudio fue desde agosto hasta octubre del año 2023.

Ámbito

Se llevó a cabo en el Bioterio de la UAI, ubicado en calle Presidente Roca N° 1642, Rosario, Santa Fe, Argentina. Cabe destacar que esta es una universidad privada, laica, autónoma, plural y sin fines de lucro de Argentina. La cual integra la red de instituciones Vanguardia Educativa "VANEDUC", entidades no confesionales dedicadas a la docencia e investigación educativa desde 1942.

Población

La población de estudio fue conformada por animales, se utilizó un total de 6 ratones C57BL/6J de 6 a 8 semanas de edad, presentes en el bioterio de la UAI.

Criterios de inclusión

-Ratones hembra adultas de la línea C57BL/6J de 6 a 8 semanas de edad.

Criterios de exclusión

-Ratones C57BL/6J no sanos o con compromiso aparente del bienestar.

Muestreo y tamaño muestral

El muestreo fue no probabilístico por conveniencia. La muestra quedó conformada por aquellos ratones que reunían los criterios de inclusión especificados para este estudio.

Procedimiento

Para el desarrollo de este trabajo se utilizaron ratones hembra adultas de las cepas C57BL/6J. Se mantuvieron bajo un ciclo de luz-oscuridad de 12 horas y se alimentaron con comida regular para ratones.

Los animales fueron separados al azar en dos grupos: sham y OUU. Los animales sham fueron sometidos a cirugías simuladas (sham: término universal, que proviene del inglés, que indica intervención simulada). El procedimiento quirúrgico de la OUU se realizó de

acuerdo a Chevalier et al. [7]. Los ratones fueron anestesiados con una mezcla de ketamina, xilacina y solución fisiológica (100 mg/3 mg/kg peso corporal), a través de una inyección intraperitoneal. Una vez constatado que los animales estaban profundamente anestesiados (testeo de reflejo podal), se dio comienzo al procedimiento quirúrgico. Los mismos fueron afeitados en el lado izquierdo del abdomen, y se realizó una primera incisión vertical a través de la piel con un bisturí y una segunda incisión a través del peritoneo para exponer el riñón. Quince mm por debajo de la pelvis renal, el uréter izquierdo fue doblemente ligado con seda quirúrgica y luego se cortó entre ambas ligaduras. Posteriormente, el riñón ligado se recolocó suavemente en su posición anatómica correcta y se esterilizó toda la zona. Se mantuvo especial cuidado en la pérdida de fluido corporal, aportando solución fisiológica de ser necesario mediante cateterización de la vena femoral o mediante lavados intraperitoneales. Finalmente, las incisiones se suturaron y los ratones fueron enjaulados individualmente hasta el fin de los estudios. En este modelo de obstrucción, bajo una dieta normal, el flujo sanguíneo renal y la tasa de filtración glomerular se reducen significativamente dentro de las 24 h y, la inflamación intersticial, la dilatación tubular, la atrofia y la fibrosis son evidentes después de 7 días. El riñón obstruido alcanza su máxima disfunción alrededor de los 15 días después del procedimiento, periodo en el cual los animales no manifiestan signos de sufrimiento evidente alguno (presumiblemente debido a fenómenos compensatorios por parte del riñón sano). Luego de transcurridas 2 semanas desde las cirugías, los ratones fueron anestesiados nuevamente con ketamina/xilacina (100 mg/3 mg/kg peso corporal) y se les indujo la muerte por extracción total de sangre mediante punción cardíaca, con la cual se obtuvo suero por decantación seguida de centrifugación a 3500 rpm durante 10 min. Luego de la exanguinación, se recogió el riñón izquierdo (obstruido) y derecho (control) de cada animal y se procesó de acuerdo a cada determinación experimental a realizar.

Caracterización del daño: se midieron parámetros bioquímicos de la función renal y se realizaron análisis histológicos. La función renal animal se determinó analizando los valores de urea en suero utilizando kits comerciales (Wiener lab), y respetando las instrucciones del fabricante. Los análisis histológicos, se realizaron en secciones de tejido renal embebidos en parafina. Para evaluar la severidad de la injuria tubular, y de la fibrosis tubulointersticial, se realizaron tinciones de cortes de tejido renal con hematoxilina-eosina (H-E) y con Picrosirius Red, respectivamente.

Definiciones

Ratón C57BL/6J: cepa de ratón de laboratorio genéticamente modificada respecto de un animal salvaje muy utilizada como modelo de enfermedades humanas.

Variables

-Valores de urea en plasma: variable cuantitativa continua.

Operacionalización: mg/dL.

-Daño en secciones de tejido renal embebido en parafina: variable cualitativa nominal dicotómica.

Operacionalización: Si-No.

-Cambios morfológicos macroscópicos después de la intervención: variable cualitativa nominal dicotómica.

Operacionalización: Si- No

Análisis estadísticos

En cada caso se aplicaron los estudios estadísticos adecuados. Cada grupo de animales contó con un n igual o mayor a 3. Los resultados se expresaron como valor de la media $\pm$ SE. Dado que solamente se realizó la comparación de los valores de urea en suero, la significancia de las diferencias halladas se puso a prueba mediante un t test de datos no apareados seguido de la corrección de Welch.

Consideraciones éticas

Todas las pruebas planteadas están aprobadas por el comité institucional para el cuidado de animales de laboratorio (CICUAL).

RESULTADOS

Consideraciones generales

Durante el período de tiempo comprendido entre los meses de agosto y octubre, se llevó a cabo en el Bioterio de la UAI el procedimiento quirúrgico a 6 ratones.

La edad promedio de los animales fue de 8 semanas y el peso promedio fue de 22,5 g. Durante el experimento, el consumo de alimento fue similar entre los grupos estudiados y no se observaron signos de deshidratación.

La eutanasia de los ratones fue realizada luego de transcurridas 2 semanas desde la intervención.

Para una mejor organización, los ratones estudiados fueron divididos en dos grupos: sham (cirugía simulada) y OUU, dentro de estos últimos se halla el riñón con obstrucción ureteral unilateral (ROUU) y el riñón contralateral sin obstrucción ureteral unilateral (RCOUU) el cual se utilizó como control interno de los animales con cirugía.

Análisis macroscópico

Los riñones de los animales pertenecientes al grupo Sham se mostraron tal como se esperaba respecto a la bibliografía, conservando sus tamaños y formas normales (Figura 3a).

La figura 3b muestra ambos riñones pertenecientes a los animales del grupo OUU. Como se observa, el RCOUU conserva su tamaño, forma y color, similar a los riñones del grupo sham. Sin embargo, el ROUU, muestra un cambio notorio respecto al RCOUU: se vuelve más pálido y tenso a la palpación (Figura 3c). Se observó que el ROUU presenta una dilatación creciente del uréter proximal a la obstrucción y la pelvis renal. Asimismo, este riñón incrementó su diámetro longitudinal y transversal. Se evidenció pérdida de la estructura anatómica normal cuando se realiza un corte sagital (Figura 3d). Este cambio morfológico es compatible con hidronefrosis.

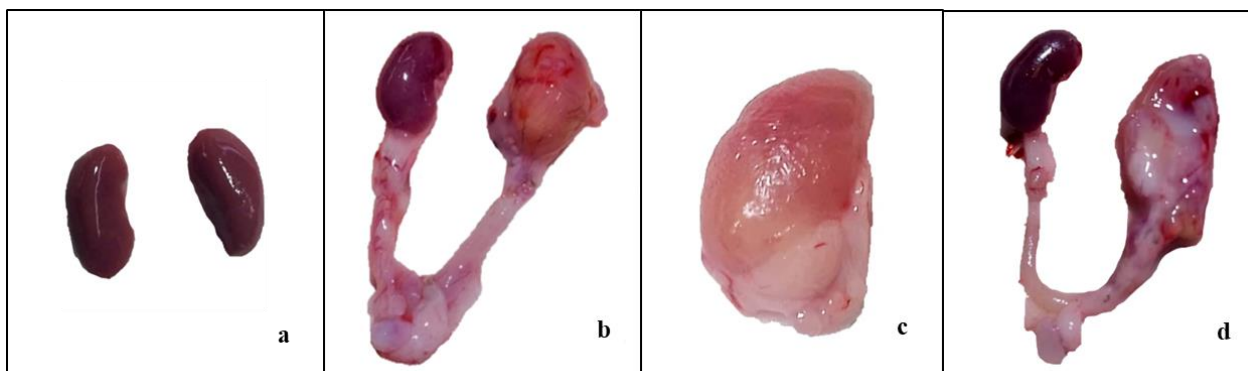


Figura 3. Imágenes representativas del aspecto macroscópico del aparato urinario de los animales de cada grupo. a-Morfología conservada de los riñones del grupo sham. b-El ROUU presenta un tamaño considerablemente mayor que su control interno, el RCOUU. c-ROUU visiblemente más pálido y tenso luego de dos semanas de la intervención. d-Corte sagital en ROUU, evidencia hidronefrosis.

Análisis histológico

Los resultados histológicos de ambos grupos demuestran cambios que se corresponden con el procedimiento que se llevó a cabo en cada uno. Se describen a continuación en primer lugar las secciones histológicas teñidas con H-E.

Como era de esperar, en los ratones sham se observó una histoarquitectura renal normal, con corteza, médula y papila conservadas. Los glomérulos se mostraron rodeados por túbulos con luz discernible y evidente (Figura 4 y 5a). Del mismo modo, estas observaciones se evidenciaron en el RCOUU de los animales sometidos a la cirugía obstructiva (Figura 4 y 5b).

En los ROUU se destacó la presencia de hidronefrosis acompañada de ablación de la médula renal externa con atrofia tubular medular cortical asociada. En la corteza se observaron túbulos proximales dilatados, expansión intersticial y engrosamiento de la membrana basal de túbulos y glomérulos (Figura 4 y 5c). Aparentemente, se observaría un infiltrado inflamatorio, pero para confirmarlo, se requieren de otros estudios que, por razones de tiempo no pudieron concretarse.

Otra característica del grupo ROUU, y ya descrita por otros investigadores [48], es que los corpúsculos renales parecen presentarse con un tamaño menor al de los RCOUU y al de animales sham.

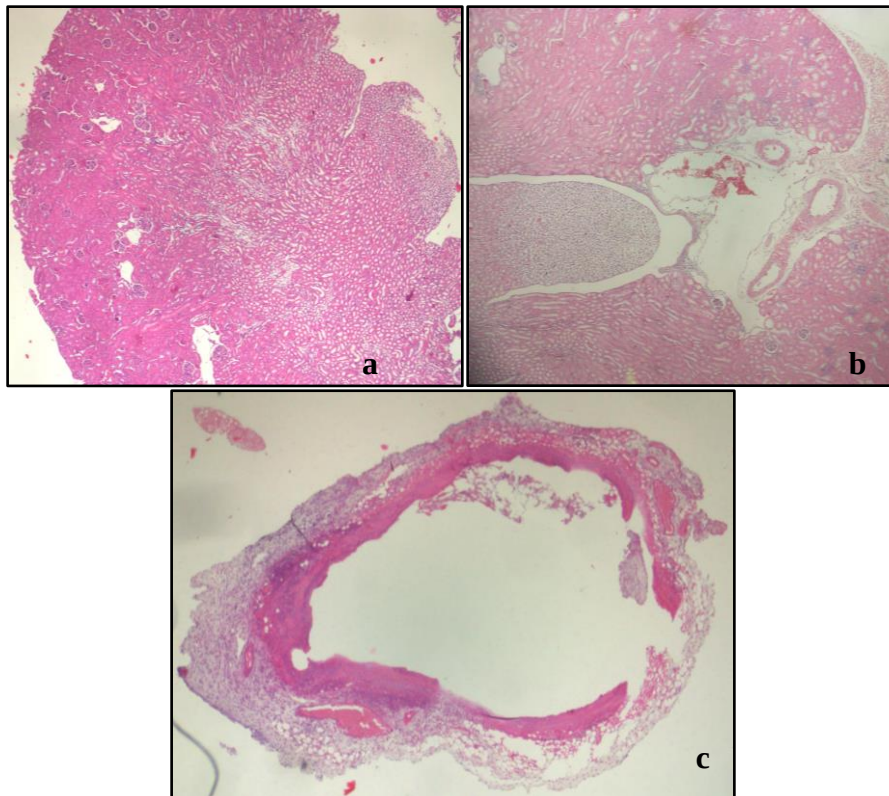


Figura 4. Imágenes representativas de secciones de tejido renal teñidas con H-E en ratones de ambos grupos experimentales (aumento 40x). a y b-Histología normal de riñones del grupo sham y RCOUU. c-ROUU con cambios compatibles con hidronefrosis: adelgazamiento de la corteza renal, escasas unidades glomerulares, atrofia del parénquima renal.

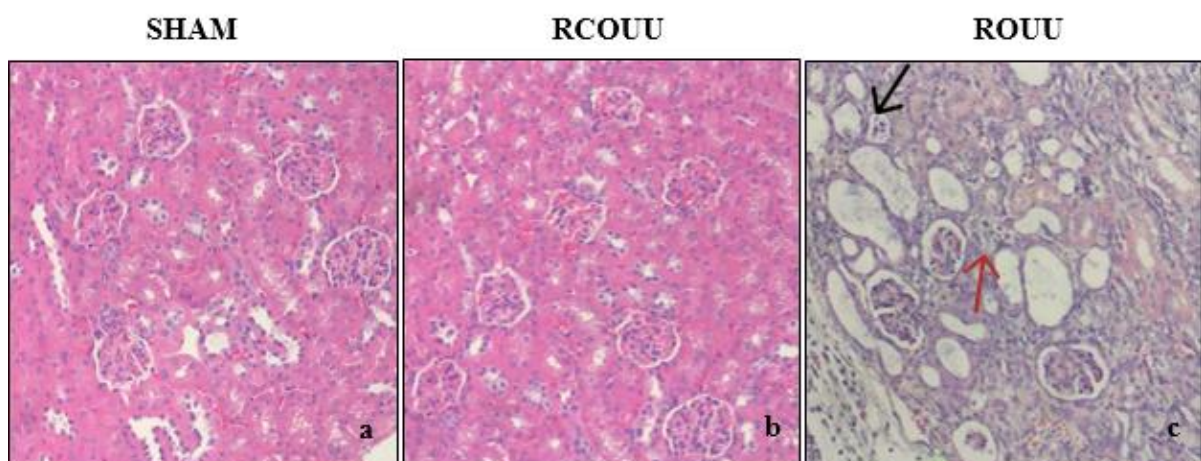


Figura 5. Imágenes representativas de secciones de tejido renal teñidas con H-E (aumento 100x) en ratones sham, RCOUU y ROUU. a y b-Se conserva la arquitectura glomerular y tubular en los riñones de los ratones sham y RCOUU. c-Pérdida del parénquima renal normal en ROUU, con dilatación tubular (Flecha negra) y posible infiltrado inflamatorio (flecha bordó).

Por otro lado, al analizar las tinciones de colágeno, fue posible observar que tanto los riñones del grupo de ratones sham como el RCOUU no mostraron cambios significativos en la distribución de fibras colágenas (Figura 6a y b). En los ROUU se encontró un aumento en la deposición de colágeno en el intersticio tubular renal (Figura 6c). Los ROUU reflejan la presencia de cambios patológicos de fibrosis.

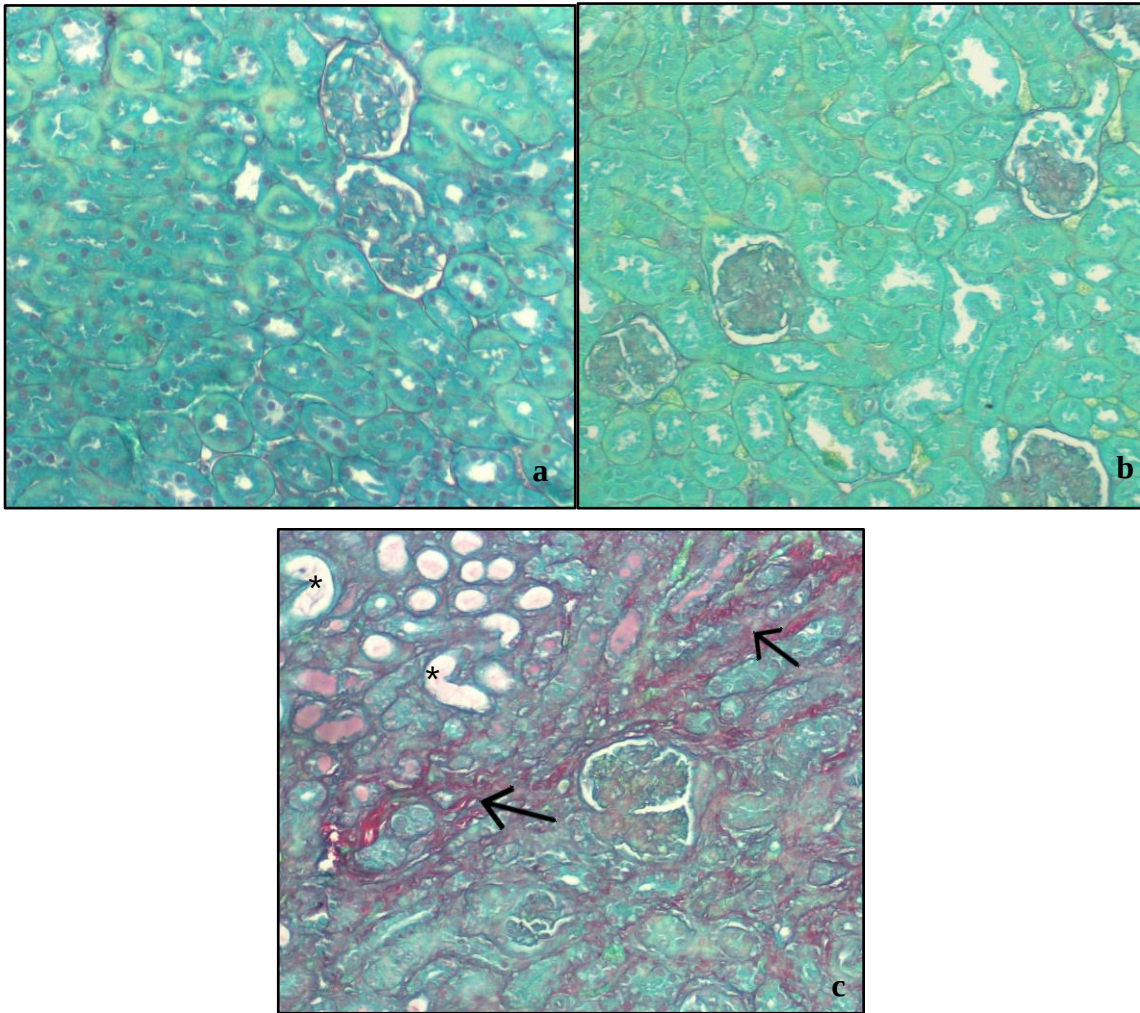


Figura 6. Imágenes representativas de la deposición de colágeno en el riñón de ratones sham (a), RCOUU (b) y ROUU (c), con tinción Picrosirius Red (200x). Las fibras de colágeno teñidas se evidencian de color rojo (flechas), junto con los túbulos dilatados (*).

Análisis de los parámetros bioquímicos

La determinación de los niveles séricos de urea no reveló cambios estadísticamente significativos entre los grupos estudiados (Figura 5).

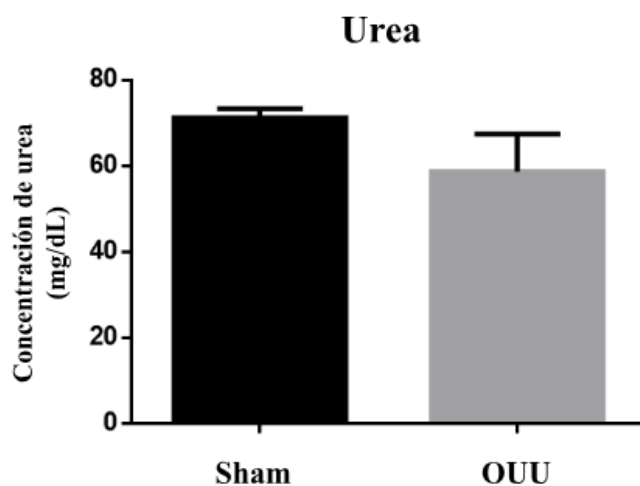


Figura 5. Niveles séricos de urea en los grupos estudiados (mg/dL). Cada barra muestra la media $\pm$ error estándar (n=3 ratones por grupo).

DISCUSIÓN

La nefropatía obstructiva es una condición clínica aguda que pertenece al campo de la nefrología y la urología y requiere un diagnóstico y tratamiento oportunos. Epidemiológicamente, representa el 10% de las causas de lesiones renales agudas y el 4% de las causas de lesiones renales crónicas en etapa terminal [49]. En general, las principales etiologías de la nefropatía obstructiva varían con la edad del paciente: las anomalías anatómicas, como obstrucciones de la unión ureterovesical, válvulas uretrales posteriores, estenosis y vejiga neuropática, son más frecuentes en los niños; mientras que las condiciones adquiridas, tales como obstrucción de la próstata, tumores, nefrolitiasis, y fibrosis retroperitoneal, prevalecen en los adultos [49, 50].

Se sabe que los cambios en el flujo sanguíneo renal, la tasa de filtración glomerular y la función tubular son alteraciones inmediatas después de una obstrucción ureteral, según los estudios realizados en una variedad de modelos experimentales de nefropatía obstructiva. La gravedad de estos cambios depende en gran medida del grado de obstrucción (parcial o completa), la proximidad al riñón y la duración de la obstrucción. En general, y como era de esperar, cuanto más completa es la obstrucción, cuanto más cerca está el riñón y cuánto más tiempo dura la afección, más severos y menos reversibles se vuelven los cambios en la función renal. La destrucción de los nefrones se provoca por la presión hidrostática intratubular y la isquemia secundaria, y estos eventos se amplifican posteriormente por procesos celulares que se pueden dividir en tres categorías: fibrosis intersticial, muerte celular o apoptosis e inflamación tubulointersticial [51]. Las principales anomalías en la función tubular que se desarrollan como consecuencia de la lesión de las células tubulares son el deterioro en la reabsorción de agua y solutos, y la capacidad reducida para concentrar y acidificar la orina. La mayoría de estas anomalías son especialmente evidentes en el periodo postobstructivo y pueden persistir como defectos permanentes, dependiendo de la severidad del cuadro [52].

El comienzo de la nefropatía obstructiva puede ser agudo o insidioso, parcial o completo, unilateral o bilateral, en cualquier nivel de las vías urinarias y puede deberse a lesiones intrínsecas o extrínsecas que compriman el uréter. La obstrucción desencadena una reacción inflamatoria intersticial que culmina en fibrosis intersticial [53]. La fibrosis renal es el resultado de la mayoría de los trastornos renales, glomerulares o intersticiales, congénitos o adquiridos, por lo tanto, es de vital importancia conocer los factores subyacentes que pueden prevenir o revertir estos cambios [7].

El objetivo principal de este trabajo final fue la puesta a punto de un modelo de obstrucción renal, la OUU, seguida del estudio de las posibles alteraciones de la función renal básica en procesos de nefropatía obstructiva que conllevan la aparición de fibrosis renal y que, finalmente, desembocan en insuficiencia renal [44, 54].

Para reproducir una uropatía obstructiva similar a la que sucede en el humano, se utilizaron ratones de la cepa C57BL/6 a los que se sometió a una ligadura unilateral de uréter, modelo ampliamente descrito en la literatura [13, 15, 55] y que se suele utilizar para analizar los fenómenos fisiopatológicos que acaecen en procesos de insuficiencia renal crónica que cursan con fibrosis renal. Sin embargo, este modelo, no es realizado en la UAI ni en los centros de investigación de la región, con lo cual, está limitado el estudio de las patologías renales en modelos experimentales de obstrucción animal. La importancia del modelo de obstrucción ureteral por ligadura del uréter radica en que es considerado un buen modelo experimental para inducir daño renal caracterizado por lesión de las células tubulares, inflamación intersticial y fibrosis [7, 13, 46, 56]. El procedimiento de la ligadura causa la obstrucción completa del uréter de forma aguda y tiene como ventaja que las lesiones evolucionan de manera altamente reproducible, reflejando de forma acelerada la secuencia de acontecimientos patogénicos de la nefropatía obstructiva. Dependiendo del tiempo de la ligadura clínicamente, la OUU se caracteriza por una uremia ligera y transitoria y la ausencia de hipertensión. Histológicamente se define por un aumento de infiltrado intersticial de células, fundamentalmente macrófagos, seguidos en número por linfocitos T, aunque también pueden encontrarse neutrófilos ya desde el día 1 tras la obstrucción. Al mismo tiempo, se produce una proliferación de células intersticiales y dilatación tubular durante los primeros días después de la obstrucción ureteral [46, 49, 56]. Entre los días 4-10 ya es constatable la proliferación de miofibroblastos, apoptosis tubular y comienzo de la atrofia, iniciándose un exceso de deposición de matriz extracelular.

En resumen, el modelo de OUU demostró ser útil para estudiar la progresión de la nefropatía obstructiva hacia fibrosis renal definitiva [11], y teniendo en cuenta que no existen tratamientos antifibróticos exitosos [32], se planteó la necesidad de contar con modelos de estudio adecuados; motivo por el cual fue llevada a cabo esta investigación. Tal como se esperaba, la cirugía simulada no representó ningún problema para los animales, dado que los mismo fueron sometidos a apertura, seguida de sutura de la pared abdominal. Llamativamente, luego de transcurridas dos semanas del procedimiento, no se observaron cambios a simple vista en los RCOUU, lo cual contrastaba con los riñones

de los ratones del grupo OUU, que demostraron cambios macroscópicos evidentes, compatibles con hidronefrosis, presentaron aumento del diámetro, diferencias en la palpación y en su coloración, y al corte sagital se evidenció pérdida de gran cantidad de líquido, seguida de un claro vaciamiento, con visible pérdida de la arquitectura anatómica normal.

Similarmente, tal como era de esperarse, los riñones del grupo sham no manifestaron signos patológicos de ningún tipo al análisis microscópico. Interesantemente, los RCOUU, tampoco mostraron signos microscópicos patológicos, evidenciando conservación arquitectónica bien delimitada entre corteza y médula, así como glomérulos y túbulos renales dentro de los parámetros normales.

En el caso de los ROUU, la dilatación de los túbulos fue prácticamente uniforme, con una atrofia importante del parénquima y adelgazamiento de la corteza.

Si bien los resultados de la medición de urea no fueron significativos, es posible atribuir esto a la compensación por parte del riñón contralateral no obstruido.

En este trabajo, el tiempo de evolución de los riñones tras la ligadura ha sido de 15 días ya que, si bien la fibrosis empieza a ser apreciable a partir del día 8, es a partir del día 15 el tiempo estimado en el que son plenamente verificables las alteraciones descritas para este modelo con clara acumulación de matriz extracelular, extensa atrofia tubular y afluencia de células inflamatorias, especialmente macrófagos [46, 49, 56]. Si el proceso se mantiene la fibrosis evoluciona y, con el tiempo, el riñón se ve abocado a un colapso crónico.

Tras la obstrucción ureteral se produce un estancamiento de la orina que conduce lógicamente al proceso de hidronefrosis, que provoca en primer lugar la compresión mecánica de la médula y de la corteza renal, provocando la desaparición casi completa de papilas y de la mayor parte de la médula. Los componentes de la corteza están más conservados, aunque también se observan comprimidos [49]. Como se comentó en los resultados, estos fenómenos quedaron confirmados en este estudio al examinar los preparados teñidos con hematoxilina-eosina.

Por lo anteriormente mencionado, es posible confirmar que el modelo OUU permitió el estudio de la lesión tubular, el depósito de colágeno y el desarrollo de fibrosis, teniendo la ventaja de permitir la variación en la gravedad, momento y duración de la obstrucción. Sin embargo, como menciona Chevalier et al., [7] utilizar la OUU presenta beneficios como los detallados y tales como la ausencia de toxinas exógenas, la falta de un ambiente urémico y la disponibilidad del riñón contralateral desobstruido como control, no

obstante, el uso del mismo no tiene en cuenta sus cambios compensatorios funcionales ni metabólicos en respuesta a la OUU.

Los resultados abren una puerta para una mejor comprensión de los múltiples mecanismos que tienen lugar durante la nefropatía obstructiva, como primer paso necesario para la posterior consideración de diferentes vías que culminan en una fibrosis generalizada y ERC.

LIMITACIONES

Para llevar adelante el estudio, en primera instancia, se debió poner a punto el modelo experimental de fibrosis inducida por OUU, ya que dicho procedimiento no había sido realizado previamente en el bioterio de la UAI ni en entidades de investigación regionales. Debido a que la población estipulada debía tener una edad de 6 a 8 semanas y no se contaba con un número suficiente de machos de dicha edad, estos fueron reemplazados por hembras.

Si bien en una primera instancia se planteó que la anestesia se llevaría a cabo mediante el uso de isoflurano, esto no fue posible. Fue realizada, en cambio, con una preparación de ketamina, xilacina y solución fisiológica. Queda pendiente el uso del anestésico inhalatorio recomendado para futuros estudios de OUU.

CONCLUSIONES

En este trabajo se demostraron cambios morfológicos macroscópicos en el riñón izquierdo cuyo uréter fue intervenido, dichas variaciones se correlacionan en forma directa con los resultados histológicos. El modelo de desarrollo de fibrosis por OUU realizado en este estudio es factible y reproducible y puede ser de utilidad para el estudio de patologías renales obstructivas.

A pesar de que se necesitan estudios adicionales para comprender completamente los mecanismos implicados en el proceso de fibrosis, este trabajo proporciona evidencias de que el objetivo propuesto en una primera instancia fue alcanzado.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. OPS. La carga de enfermedades renales en la Región de las Américas, 2000-2019. Portal de Datos ENLACE, Organización Panamericana de la Salud. 2021.
2. Carney EF. The impact of chronic kidney disease on global health. *Nat Rev Nephrol* 2020;16:251.
3. Nogueira A, Pires MJ, Oliveira PA. Pathophysiological Mechanisms of Renal Fibrosis: A Review of Animal Models and Therapeutic Strategies. *InVivo* 2017;31:1–22.
4. Grande MT, Lopez-Novoa JM. Fibroblast activation and myofibroblast generation in obstructive nephropathy. *Nat Rev Nephrol* 2009;5:319–328.
5. Tammaro A, Stroo I, Rampanelli E, Blank F, Butter LM, Claessen N, et al. Role of TREM1-DAP12 in renal inflammation during obstructive nephropathy. *PLoS One*. 2013;8(12):e82498. 10.1371/journal.pone.0082498
6. Xu W, Shao X, Tian L, Gu L, Zhang M, Wang Q, et al. Astragaloside IV ameliorates renal fibrosis via the inhibition of mitogen-activated protein kinases and antiapoptosis in vivo and in vitro. *J Pharmacol Exp Ther* 2014;350 (3):552–562. 10.1124/jpet.114.214205
7. Chevalier RL, Forbes MS, Thornhill BA. Ureteral obstruction as a model of renal interstitial fibrosis and obstructive nephropathy. *Kidney Int* 2009;75(11):1145-1152. 10.1038/ki.2009.86.
8. Chevalier RL, Thornhill BA, Forbes MS, Kiley SC. Mechanisms of renal injury and progression of renal disease in congenital obstructive nephropathy. *Pediatr Nephrol* 2010;25(4):687-97. 10.1007/s00467-009-1316-5.
9. Jha V, Garcia-Garcia G, Iseki K, Li Z, Naicker S, Plattner B, et al. Chronic kidney disease: global dimension and perspectives. *Lancet*. 2013;382(9888):260-72. 10.1016/S0140-6736(13)60687-X.
10. Martínez-Klimova E, Aparicio-Trejo OE, Tapia E, Pedraza-Chaverri J. Unilateral Ureteral Obstruction as a Model to Investigate Fibrosis-Attenuating Treatments. *Biomolecules*. 2019;9(4):141. 10.3390/biom9040141.
11. Chen CM, Lin CY, Chung YP, Liu CH, Huang KT, Guan SS, et al. Protective Effects of Nootkatone on Renal Inflammation, Apoptosis, and Fibrosis in a Unilateral Ureteral Obstructive Mouse Model. *Nutrients*. 2021;13(11):3921. 10.3390/nu13113921.
12. Zou J, Yu C, Zhang C, Guan Y, Zhang Y, Tolbert E, et al. Inhibition of MLL1 -menin interaction attenuates renal fibrosis in obstructive nephropathy. *FASEB*. 2023;37(1). 10.1096/fj.202100634RRR
13. Ucero AC, Benito-Martin A, Izquierdo MC, Sanchez-Niño MD, Sanz AB, Ramos AM, et al. Unilateral ureteral obstruction: beyond obstruction. *Int Urol Nephrol*. 2014;46(4):765-76. 10.1007/s11255-013-0520-1
14. Hammad FT. The long-term renal effects of short periods of unilateral ureteral obstruction. *Int J Physiol Pathophysiol Pharmacol*. 2022;14(2):60-72.
15. Wyczanska M, Lange-Sperandio B. DAMPs in Unilateral Ureteral Obstruction. *Front Immunol*. 2020;11:581300.

16. Tortora, G.J & Derrickson, B. Principios de anatomía y fisiología. 11^a ed. Buenos Aires: Medica Panamericana; 2010.
17. Kalantar-Zadeh K, Jafar TH, Nitsch D, Neuen BL, Perkovic V. Chronic kidney disease. *Lancet*. 2021;398(10302):786-802. 10.1016/S0140-6736(21)00519-5.
18. Zhang JG, Xing ZY, Zha TT, Tian X-J, Du Y-N, Chen J, et al. Longitudinal assessment of rabbit renal fibrosis induced by unilateral ureteral obstruction using two-dimensional susceptibility weighted imaging. *J Magn Reson Imaging*. 2018;47(6):1572-1577. 10.1002/jmri.25915.
19. Instituto Nacional de Estadísticas y Censos MdSdlN. Tercera Encuesta Nacional de Factores de Riesgo para Enfermedades No Transmisibles. Primera Edición. 2015.
20. Vallejos A MH, Cusumano A. ¿Qué importancia le damos y cómo evaluamos la función renal?. *Nefrología Argentina*. 2007;5:199.
21. Ministerio de Salud. PROGRAMA NACIONAL DE ABORDAJE INTEGRAL DE ENFERMEDADES RENALES. Ministerio de Justicia y Derechos Humanos - Argentina [Internet]. [2021]. Disponible en: <https://servicios.infoleg.gob.ar/infolegInternet/anexos/345000-349999/347584/norma.htm>
22. Torales S VA, Valenti L. Hacia un nuevo paradigma en el abordaje de la enfermedad renal crónica avanzada. *Rev Argent Salud Pública*. 2018;9:33.
23. Chu CD, Powe NR, McCulloch CE, Crews DC, Han Y, Bragg-Gresham JL, et al. Trends in chronic kidney disease care in the US by race and ethnicity, 2012-2019. *JAMA Netw Open*. 2021;4(9):e2127014. 10.1001/jamanetworkopen.2021.27014.
24. CADRA. Observatorio de Enfermedad Renal Crónica - Análisis base de datos. [Internet]. [2020]. Disponible en: https://www.cadradialisis.org.ar/descargas/SACADIA/Informe_Marzo_2020.pdf
25. Moreno JA, Gomez-Guerrero C, Mas S, Sanz AB, Lorenzo O, Ruiz-Ortega M, et al. Targeting inflammation in diabetic nephropathy: a tale of hope. *Expert Opin Investig Drugs* 2018;27(11):917-930. 10.1080/13543784.2018.1538352.
26. Meng XM. Inflammatory Mediators and Renal Fibrosis. *Adv Exp Med Biol* 2019;1165:381-406. 10.1007/978-981-13-8871-2_18.
27. Rapa SF, Di Iorio BR, Campiglia P, Heidland A, Marzocco S. Inflammation and Oxidative Stress in Chronic Kidney Disease-Potential Therapeutic Role of Minerals, Vitamins and Plant-Derived Metabolites. *Int J Mol Sci*. 2019;21(1):263. 10.3390/ijms21010263.
28. Ding Y, Tan Y, Qu Z, Yu, F. Renal microvascular lesions in lupus nephritis. *Ren Fail*. 2020;42 (1):19-29. 10.1080/0886022X.2019.1702057.
29. Juszczak F, Caron N, Mathew AV, Declèves AE. Critical Role for AMPK in Metabolic Disease-Induced Chronic Kidney Disease. *Int J Mol Sci*. 2020;21 (21):7994. 10.3390/ijms21217994.
30. Ruiz-Ortega M, Rayego-Mateos S, Lamas S, Ortiz A, Rodrigues-Diez RR. Targeting the progression of chronic kidney disease. *Nat Rev Nephrol*. 2020;16(5):269-288. 10.1038/s41581-019-0248-y.

31. Webster AC, Nagler EV, Morton RL, Masson P. Chronic Kidney Disease. *Lancet*. 2017;389(10075):1238-1252. 10.1016/S0140-6736(16)32064-5.
32. Wynn TA, Ramalingam TR. Mechanisms of fibrosis: therapeutic translation for fibrotic disease. *Nat Med*. 2012;18(7):1028-40. 10.1038/nm.2807.
33. Kuppe C, Ibrahim MM, Kranz J, Zhang X, Ziegler S, Perales-Patón J, et al. Decoding myofibroblast origins in human kidney fibrosis. *Nature*. 2021;589(7841):281–6. 10.1038/s41586-020-2941-1.
34. Farris AB, Alpers CE. What is the best way to measure renal fibrosis?: A pathologist's perspective. *Kidney Int Suppl* (2011). 2014;4(1):9-15. 10.1038/kisup.2014.3.
35. Menn-Josephy H, Lee CS, Nolin A, Christov M, Rybin DV, Weinberg JM, et al. Renal Interstitial Fibrosis: An Imperfect Predictor of Kidney Disease Progression in Some Patient Cohorts. *Am J Nephrol*. 2016;44(4):289-299. 10.1159/000449511.
36. Wang V, Vilme H, Maciejewski ML, Boulware LE. The Economic Burden of Chronic Kidney Disease and End-Stage Renal Disease. *Semin Nephrol* 2016;36(4):319-30. 10.1016/j.semnephrol.2016.05.008. PMID: 27475662.
37. Chávez-Iñiguez JS, Navarro-Gallardo GJ, Medina-González R, Alcantar-Vallín L, García-García G. Acute kidney injury caused by obstructive nephropathy. *Int J Nephrol*. 2020;2020:1–10. 10.1155/2020/8846622.
38. Akposso K, Hertig A, Couprie R, Flahaut A, Alberti C, Karras GA, et al. Acute renal failure in patients over 80 years old: 25-years' experience. *Intensive Care Med*. 2000;26(4):400-6. 10.1007/s001340051173.
39. Rule AD, Krambeck AE, Lieske JC. Chronic kidney disease in kidney stone formers. *Clin J Am Soc Nephrol*. 2011;6(8):2069-75. 10.2215/CJN.10651110.
40. Hippisley-Cox J, Coupland C. Predicting the risk of chronic Kidney Disease in men and women in England and Wales: prospective derivation and external validation of the Q Kidney Scores. *BMC Fam Pract* 2010;11:49. 10.1186/1471-2296-11-49.
41. Stankus N, Hammes M, Gillen D, Worcester E. African American ESRD patients have a high pre-dialysis prevalence of kidney stones compared to NHANES III. *Urol Res*. 2007;35(2):83-7. 10.1007/s00240-007-0079-3.
42. Wongmekiat O, Leelarungrayub D, Thamprasert K. Alpha-lipoic acid attenuates renal injury in rats with obstructive nephropathy. *Biomed Res Int*. 2013;2013:138719. 10.1155/2013/138719.
43. Docherty NG, Morales AI, Lopez Novoa JM, Perez Barriocanal F. La transición de células epiteliales a miofibroblastos. mecanismos involucrados y su posible relación con la fibrosis renal. *Nefrología*. 2007;27(6):661–804.
44. Liu Y. Renal fibrosis: new insights into the pathogenesis and therapeutics. *Kidney Int*. 2006;69(2):213-7; 10.1038/sj.ki.5000054.
45. Nagle RB, Bulger RE, Cutler RE, Jervis HR, Benditt EP. Unilateral obstructive nephropathy in the rabbit. I. Early morphologic, physiologic, and histochemical changes. *Lab Invest*. 1973;28(4):456-67.
46. Klahr S, Morrissey J. Obstructive nephropathy and renal fibrosis. *Am J Physiol Renal Physiol*. 2002;283(5):F861-75; 10.1152/ajprenal.00362.2001.

47. Hesketh E.E, Vernon MA, Ding P, Clay S, Borthwick G, Conway B, et al. A Murine Model of Irreversible and Reversible Unilateral Ureteric Obstruction. *J. Vis. Exp.* 2014 (94), e52559; 10.3791/52559.
48. Prieto M, Rodríguez-Peña AB, Düwel A, Rivas JV, Docherty N, Pérez-Barriocanal F, et al. Temporal changes in renal endoglin and TGF-beta1 expression following ureteral obstruction in rats. *J Physiol Biochem.* 2005;61(3):457-67. 10.1007/BF03168452.
49. Nørregaard R, Mutsaers HAM, Frøkiær J, Kwon TH. Obstructive nephropathy and molecular pathophysiology of renal interstitial fibrosis. *Physiol Rev.* 2023;103(4):2827-2872. 10.1152/physrev.00027.2022
50. Tseng TY, Stoller ML. Obstructive uropathy. *Clin Geriatr Med.* 2009; 25(3):437-43. 10.1016/j.cger.2009.06.003.
51. Yaxley J, Yaxley W. Obstructive uropathy - acute and chronic medical management. *World J Nephrol.* 2023;12(1):1-9. 10.5527/wjn.v12.i1.1.
52. Leuba C, Said C, Stucker F, Zender H, John G. Le syndrome de levée d'obstacle, vu par l'interniste [Post-obstructive diuresis, by the internal physician]. *Rev Med Interne.* 2023;44(5):253-258. 10.1016/j.revmed.2023.01.011.
53. Kumar V, Abbas AK, Fausto N, Aster JC. Robbins y Cotran Patología estructural y funcional. 8.^a ed. Barcelona: Elsevier; 2010.
54. Schreiber F, Anslinger TM, Kramann R. Fibrosis in Pathology of Heart and Kidney: From Deep RNA-Sequencing to Novel Molecular Targets. *Circ Res.* 2023; 132(8):1013-1033. 10.1161/CIRCRESAHA.122.321761.
55. Portilla D, Xavier S. Role of intracellular complement activation in kidney fibrosis. *Br J Pharmacol.* 2021;178(14):2880-2891. 10.1111/bph.15408.
56. Klahr S. Obstructive nephropathy. *Kidney Int.* 1998;54(1):286-300.

ANEXOS

ANEXO I- CARTA TUTOR

Rosario, 20 de octubre de 2023

Dr. Jorge Guillermo Kilstein
Director de la Carrera de Medicina Facultad de Medicina y Ciencias de la Salud
Universidad Abierta Interamericana
Sede Rosario

De mi mayor consideración

Por medio de la presente me dirijo a usted con la finalidad de dar a conocer que la Dra. Marina C. Vera acepta ser tutora de mi trabajo final de carrera titulado “Desarrollo de un modelo experimental de fibrosis inducida por obstrucción ureteral unilateral (OUU)”, y se compromete a guiarme y acompañarme en el proceso.
Sin otro particular, lo saludo atentamente.

Acepto.-



Dra. Marina C. Vera



Camila Escobar

ANEXO II- CARTA CO-TUTOR

Rosario, 20 de octubre de 2023

Dr. Jorge Guillermo Kilstein

Director de la Carrera de Medicina Facultad de Medicina y Ciencias de la Salud

Universidad Abierta Interamericana

Sede Rosario

De mi mayor consideración

Por medio de la presente me dirijo a usted con la finalidad de dar a conocer que el Dr. Ariel D. Quiroga, acepta ser cotutor de mi trabajo final de carrera titulado “Desarrollo de un modelo experimental de fibrosis inducida por obstrucción ureteral unilateral (OUU)”, y se compromete a guiarme y acompañarme en el proceso.

Sin otro particular, lo saludo atentamente.

Acepto.-



Ariel D. Quiroga



Camila Escobar

ANEXO III- CARTA CO-TUTOR

Rosario, 20 de octubre de 2023

Dr. Jorge Guillermo Kilstein

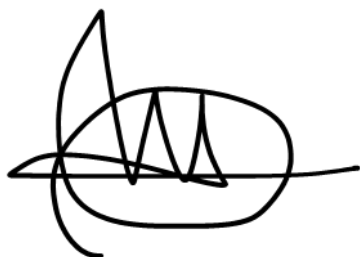
Director de la Carrera de Medicina Facultad de Medicina y Ciencias de la Salud
Universidad Abierta Interamericana
Sede Rosario

De mi mayor consideración

Por medio de la presente me dirijo a usted con la finalidad de dar a conocer que la Dra. Marcela E. Trapé, acepta ser tutor de mi trabajo final de carrera titulado “Desarrollo de un modelo experimental de fibrosis inducida por obstrucción ureteral unilateral (OUU)”, y se compromete a guiarme y acompañarme en el proceso.

Sin otro particular, lo saludo atentamente.

Acepto.-

A stylized handwritten signature in black ink, featuring a large loop on the left and several sharp, vertical strokes in the center.

Dra. Marcela E. Trapé

A handwritten signature in black ink, consisting of a series of connected loops and a long, sweeping tail that extends downwards.

Camila Escobar



Rosario, 20 de octubre de 2023

Atte.: A quien corresponda
S/D

Por la presente se autoriza a **CAMILA ESCOBAR DNI: 37.970.459** a llevar a cabo su **Trabajo Final de la Carrera de Medicina**, Facultad de Medicina y Ciencias de Salud de la Universidad Abierta Interamericana titulado *“Desarrollo de un modelo experimental de fibrosis inducida por obstrucción ureteral unilateral (OUU)”*, en el Bioterio de dicha Universidad bajo la supervisión y tutoría de la investigadora Dra. Marina Vera y el responsable del mismo Dr. Ariel Quiroga.

Sin otro particular, saluda atentamente

Dra. Florencia Fernandez

RECTORADO

CHACABUCO 90 1º PISO - CAPITAL FEDERAL - (C1069AAB) BUENOS AIRES - ARGENTINA
TEL/FAX: (54-11) 4342-7788 (Y ROTATIVAS) FAX: (54-11) 4342-7654
Filial USA: 4009 Pinta Court, Coral Gables - Florida, USA, 33146-1116
Página Web: www.uai.edu.ar E-mail: uai@vaneduc.edu.ar

Miembro de la Asociación Universitaria Iberoamericana de Postgrado

