

Artículo original

Estado morfofuncional renal y su contribución a la hipertensión arterial en ratas con bajo peso al nacer

Renal morphofunctional status and its contribution to arterial hypertension in rats with low birth weight

Adina Pérez Mejías^{1*} <https://orcid.org/0000-0001-9354-5461>

Daniel Caraballo Bosch² <https://orcid.org/0000-0001-7767-0422>

Lucía González Núñez³ <https://orcid.org/0000-0003-0948-1114>

Tammy Fernández Romero¹ <https://orcid.org/0000-0002-2478-6365>

¹Universidad de Ciencias Médicas de la Habana. Instituto de Ciencias Básicas y Preclínicas “Victoria de Girón” - Facultad de Ciencias Médicas. La Habana. Cuba.

²Universidad de Ciencias Médicas de la Habana. Facultad de Estomatología “Raúl González Sánchez”. La Habana. Cuba.

³Escuela Latinoamericana de Medicina. Cuba.

*Autor para la correspondencia: adina.perez@infomed.sld.cu

RESUMEN

Introducción: son numerosas las evidencias de la asociación entre el bajo peso al nacer y la hipertensión arterial en la adultez, pero los mecanismos son poco conocidos. El objetivo fue evaluar el estado morfofuncional renal y su contribución

al desarrollo de hipertensión arterial en ratas con bajo peso al nacer por insuficiencia vascular placentaria.

Métodos: se realizó un estudio experimental en crías de ratas Wistar que fueron sometidas a ligadura de las arterias uterinas el día 16 de la gestación. Se utilizó un grupo control de crías de ratas sin ligadura. Al nacer, se determinó el peso corporal, y a las tres semanas, el peso corporal, variables hemodinámicas y morfofuncionales renales. Las comparaciones se realizaron con las pruebas U de Mann Whitney o t de Student, según la distribución de las variables. Las diferencias se consideraron significativas con valores de $p < 0,05$.

Resultados: las crías de las ratas con ligadura presentaron bajo peso al nacer. A las tres semanas, mostraron mayor peso corporal, volumen plasmático corporal y presión arterial que los controles. En los riñones se observó un peso y función similar a los controles, con menor número de glomérulos, así como mayor volumen glomerular y grosor de la pared de los túbulos proximales.

Conclusiones: la insuficiencia vascular placentaria induce cambios en los glomérulos y túbulos proximales renales de ratas, que se evidencian a las tres semanas del nacimiento. Los cambios morfológicos provocan ajustes adaptativos en la función renal, que conducen al incremento de la presión arterial.

Palabras clave: bajo peso al nacer; hipertensión arterial; túbulo proximal; volumen plasmático corporal.

ABSTRACT

Introduction: there is numerous evidence of the association between low birth weight and high blood pressure in adulthood, but the mechanisms are poorly understood. The objective was to evaluate the renal morphofunctional status and

its contribution to the development of arterial hypertension in rats with low birth weight due to placental vascular insufficiency.

Methods: an experimental study was carried out in Wistar rat pups that were subjected to ligation of the uterine arteries on day 16 of gestation. A control group of rat pups without ligation was used. At birth, body weight was determined, and at three weeks, body weight, hemodynamic and renal morphofunctional variables. Comparisons were made with the Mann Whitney U or Student t tests, depending on the distribution of the variables. Differences were considered significant with values of $p < 0.05$.

Results: the offspring of the rats with ligation had low birth weight. At three weeks, they showed higher body weight, body plasma volume and blood pressure than controls. In the kidneys, a weight and function similar to the controls was observed, with a lower number of glomeruli, as well as greater glomerular volume and thickness of the wall of the proximal tubules.

Conclusions: placental vascular insufficiency induces changes in the renal glomeruli and proximal tubules of rats, which are evident three weeks after birth. Morphological changes cause adaptive adjustments in kidney function, which lead to increased blood pressure.

Keywords: low birth weight; high blood pressure; proximal tubule; plasma volume

Recibido: 11/08/2024

Aprobado: 03/11/2024

Introducción

La hipertensión arterial (HTA) constituye un problema de salud mundial, ⁽¹⁾ cuyos mecanismos fisiopatogénicos no se han esclarecido del todo, a pesar de los avances científicos en el campo de la medicina. Por otra parte, la exposición a un ambiente adverso durante la vida intrauterina o posnatal temprana, puede predisponer al individuo a padecer una enfermedad durante la adultez, lo que se conoce como programación del desarrollo. Se sabe que este proceso se debe a modificaciones estructurales y funcionales en el organismo, pero su relación con el desarrollo de la HTA es poco conocida. ⁽²⁻⁵⁾

De los marcadores de un ambiente intrauterino adverso, el bajo peso al nacer (BPN) se considera el más disponible. ⁽³⁾ El BPN suele ser el resultado de la plasticidad del desarrollo ante factores adversos como la falta de nutrientes, ya sea por inadecuada alimentación de la madre o por una insuficiencia placentaria. ⁽⁶⁾ Las respuestas adaptativas que se generan garantizan la supervivencia, pero pueden tener consecuencias desfavorables a largo plazo en los sistemas cardiovascular, nervioso y renal, entre otros. ⁽⁷⁾

El riñón tiene un papel determinante en el desarrollo del estado hipertensivo. La relación entre el manejo renal del sodio, la homeostasis del volumen intravascular y la HTA es bien aceptada. ⁽⁸⁾ Sin embargo, el mecanismo fisiopatológico que causa la disminución de la capacidad excretora hidrosalina del riñón permanece en estudio.

En varias investigaciones se ha demostrado un menor número de nefronas en relación con el BPN. ^(4, 5, 9) Después del nacimiento a término no se ha comprobado la formación de nuevas nefronas, por lo que su número es fijo durante la vida extrauterina. ⁽³⁾ Además, se conoce que con la edad comienza a impactar en el peso renal la pérdida de nefronas, por obsolescencia y glomeruloesclerosis, lo que

podría ser mayor en los individuos con BPN, debido a la mayor glomeruloesclerosis que produce la hiperfiltración en un riñón con un número reducido de nefronas. ⁽¹⁰⁾

El menor número de nefronas es un factor que determina la predisposición a la HTA, pero no explica todos los casos de HTA programada. ⁽³⁾ Vehaskari y cols. observaron que la relación peso renal/peso corporal era menor en las ratas con BPN que en las controles al momento del nacimiento, pero no encontraron diferencias entre los grupos después de los 14 días. El incremento del peso renal en las ratas con BPN podría atribuirse a la hipertrofia glomerular secundaria a la respuesta compensatoria de un menor número de nefronas. ⁽¹¹⁾

Por otro lado, resulta de interés que en las ratas espontáneamente hipertensas de Milán (MHS), la relación peso renal/peso corporal está disminuida antes del desarrollo de la HTA, pero sólo disminuida de forma ligera cuando esta se instala. En ese modelo ha quedado esclarecido el papel del aumento de la reabsorción tubular en el mecanismo patogénico hipertensivo, ⁽¹²⁾ que conduce a hipertrofia y aumento del peso renal. Estos resultados hacen reflexionar sobre el estado de los túbulos renales en los individuos con antecedentes de BPN.

El objetivo de esta investigación fue evaluar el estado morfofuncional renal y su contribución al desarrollo de hipertensión arterial en ratas con bajo peso al nacer por insuficiencia vascular placentaria.

Métodos

Se realizó un estudio experimental en ratas Wistar, procedentes del Centro Nacional de Producción de Animales de Laboratorio (CENPALAB). La investigación se desarrolló en el Laboratorio de Fisiología Renal del Instituto de Ciencias Básicas

y Preclínicas "Victoria de Girón"- Facultad de Ciencias Médicas (ICBP), en el período de 2022 a 2023. Todos los procedimientos realizados con los animales fueron aprobados por el Consejo Científico y el Comité de Ética de la Investigación de la institución. Se cumplieron de forma estricta las normas éticas nacionales e internacionales establecidas para el cuidado, uso y eutanasia de los animales de experimentación. ^(13, 14)

Animales, condiciones ambientales e inducción de la preñez

Se utilizaron seis hembras vírgenes, con 180 g - 200 g de peso corporal, y tres machos con 200 g - 270 g de peso corporal, que fueron mantenidos con ciclos de 12 h luz/ 12 h oscuridad, y libre acceso al agua y al alimento (pienso para ratas producido por el CENPALAB). Después de una semana de adaptación al medio, los animales fueron apareados durante la noche, en las fases proestro o estro del ciclo estral de las hembras. ⁽¹⁵⁾ Cuando se detectaron espermatozoides en el lavado vaginal realizado en la mañana, se consideró el día 0 de la gestación.

Grupos de trabajo

Se seleccionaron al azar tres ratas, a las cuales se les realizó la ligadura de las dos arterias uterinas en su punto más bajo, con seda quirúrgica 00, el día 16 de la gestación. El procedimiento se efectuó bajo anestesia (tiopental sódico 25 mg/Kg intraperitoneal) y en condiciones asépticas. ⁽¹⁶⁾ Las tres ratas restantes no fueron sometidas a ninguna intervención.

Después de producirse el parto de forma fisiológica, con las crías se formaron dos grupos, cada uno de 16 animales seleccionados al azar y con representación de ambos sexos: grupo L- crías de ratas con ligadura de arterias uterinas y grupo C- crías de ratas sin ligadura de arterias uterinas.

Variables y procedimientos para su estudio

A las crías de los dos grupos se les determinó el peso corporal en las primeras 24 horas de nacidas (balanza digital marca Crystal con sensibilidad de 1 mg) y luego se les dejó evolucionar junto a sus madres. Al cumplir las tres semanas, se les determinó el peso corporal (balanza marca Gallenkamp), así como la presión arterial sistólica y la presión arterial diastólica (sistema CODA).⁽¹⁷⁾ A continuación, de cada grupo se seleccionaron al azar ocho crías para la determinación del volumen plasmático corporal (VPC), mediante el método de dilución del indicador azul de Evans.⁽¹⁸⁾

Con las crías restantes se realizó el estudio de variables de función renal: intensidad del filtrado glomerular, mediante el aclaramiento plasmático de inulina,⁽¹⁹⁾ excreción fraccional de sodio (EF_{Na+}),⁽²⁰⁾ excreción fraccional proximal de sodio (EFP_{Na+}), equivalente a la fracción de la carga filtrada de litio exógeno que es excretada,⁽²¹⁾ y relación EFP_{Na+}/EF_{Na+} . Para la determinación de las concentraciones de sodio y litio se utilizó un fotómetro de llama Corning modelo 400.^(22, 23)

Al finalizar los procedimientos para determinar el VPC y las variables de función renal, se practicó la eutanasia (desangrado por punción cardíaca bajo anestesia profunda). A los animales utilizados para el estudio de la función renal, se les extrajo los riñones y se determinó el peso renal (balanza digital marca Crystal), así como la relación peso renal/peso corporal. El riñón izquierdo de cada animal fue seccionado a lo largo del hilio, y los fragmentos lavados (cloruro de sodio al 0,9 %) y colocados en un frasco con formalina neutra tamponada al 10 %. Posterior a la fijación, se realizó la inclusión en parafina por el método convencional.

Por cada riñón incluido en parafina, se preparó una lámina histológica con un corte de 3 μ m de grosor (micrótopo Histo- Line), que fue teñido con ácido peryódico de

Schiff (PAS). Se tomaron imágenes digitales (cámara DS-5M-U1, microscopio Nikon 50i y computadora Acer) de tres campos seleccionados al azar de cada polo renal y de la región intermedia, para un total de nueve campos. Se determinó el número de glomérulos y el volumen glomerular (aumento 100X), así como el grosor de la pared de cuatro túbulos proximales por campo (aumento 400X), seleccionados al azar y cortados de forma transversal (relación diámetro mayor/diámetro menor igual a $1 \pm 0,2$).

El volumen glomerular se calculó por el método de Weibel, ⁽²⁴⁾ a partir del área glomerular determinada con la herramienta de trazado libre del programa Image J. ⁽²⁵⁾ El grosor de la pared de los túbulos proximales se midió desde la membrana basal hasta el borde apical del ribete en cepillo, en cuatro puntos horarios (12, 3, 6 y 9) de la esfera del reloj, con ayuda de la herramienta línea recta del programa Image J. ⁽²⁵⁾

Análisis estadístico

Se utilizó el programa GraphPadPrism, versión 5.01. Se empleó la prueba Kolmogorov-Smirnov para comprobar si las variables siguieron una distribución normal. Las comparaciones entre los grupos se realizaron con las pruebas t de Student, para las variables con distribución normal, y U de Mann Whitney, para las variables sin distribución normal. Las diferencias se consideraron significativas con valores de $p < 0,05$.

Resultados

El grupo L mostró un peso corporal menor al nacer, pero mayor a las tres semanas que el grupo C. A las tres semanas, también se observó mayor presión arterial y VPC en el grupo L (Tabla 1), y no se encontraron diferencias entre los grupos en el

peso renal, la relación peso renal/peso corporal y las variables de función renal (Tabla 2). En el estudio histológico de los riñones, el grupo L presentó el número de glomérulos inferior en un 25,2 %, con volumen glomerular superior en un 62,7 % (Figura 1), y el grosor de la pared de los túbulos proximales mayor en un 8,5 %, al comparar con el grupo C (Figura 2).

Tabla 1. Peso corporal y variables hemodinámicas de crías de ratas con y sin ligadura de arterias uterinas

Variables	Grupo C		Grupo L	
	n	Media ± SD	n	Media ± SD
<i>Al nacer</i>				
Peso corporal (g)	16	6,53 ± 0,27	16	5,29 ± 0,79 *
<i>A las 3 semanas del nacimiento</i>				
Peso corporal (g)	16	61,44 ± 12,99	16	70,25 ± 11 *
PAS (mmHg)	16	90,31 ± 7,95	16	103,1 ± 5,76 *
PAD (mmHg)	16	65,63 ± 8,40	16	74,38 ± 6,56 *
VPC (ml/100g-rata)	7	8,79 ± 2,41	7	12,63 ± 2,13 **

Grupo C: crías de ratas sin ligaduras de arterias uterinas, Grupo L: crías de ratas con ligaduras de arterias uterinas, SD: desviación estándar, PAS: presión arterial sistólica, PAD: presión arterial diastólica, VPC: volumen plasmático corporal. * p < 0,05 prueba t de Student, ** p < 0,05 prueba U de Mann Whitney.

Tabla 2. Variables morfofuncionales renales de crías de ratas con y sin ligadura de arterias uterinas

Variables	Grupo C		Grupo L	
	n	Media ± SD	n	Media ± SD
IFG (ml/min/100g-rata)	8	0,09 ± 0,1	8	0,14 ± 0,1
EFNa ⁺ (100g-rata)	8	0,13 ± 0,01	8	0,12 ± 0,03
EFPNa ⁺ (100g-rata)	8	0,22 ± 0,04	8	0,18 ± 0,03
EFPNa ⁺ /EFNa ⁺	8	1,79 ± 0,41	8	1,69 ± 0,48
Peso renal (g)	8	0,60 ± 0,08	8	0,55 ± 0,09
Peso renal/peso corporal	8	0,93 ± 0,12	8	0,82 ± 0,10

Estudio realizado a las tres semanas del nacimiento. Grupo C: crías de ratas sin ligaduras de arterias uterinas, Grupo L: crías de ratas con ligaduras de arterias uterinas, SD: desviación estándar, IFG: intensidad del filtrado glomerular, EF_{Na^+} : excreción fraccional de sodio, EFP_{Na^+} : excreción fraccional proximal de sodio. $p > 0,05$ (pruebas U de Mann Whitney para la IFG y t de Student para el resto de las variables).

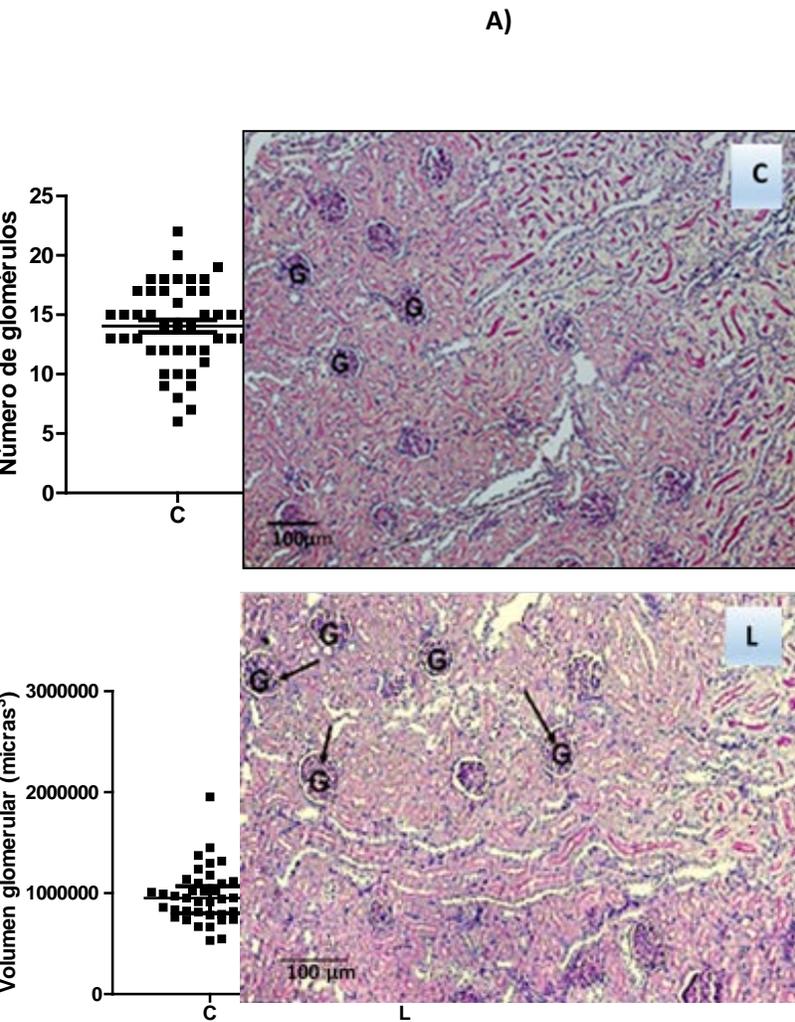


Fig. 1. Glomérulos de

crías de ratas con y sin ligadura de arterias uterinas. Estudio realizado a las tres semanas del nacimiento. A) Micrografías ópticas representativas de la corteza renal. Tinción PAS. 100X. G: glomérulos, Flechas: glomérulos con mayor volumen. B) Número y volumen glomerular. C: crías de ratas sin ligadura de arterias uterinas, L: crías de ratas con ligadura de arterias uterinas. * $p < 0,05$ (pruebas t de Student para el número de

glomérulos y U de Mann Whitney para el volumen glomerular). n= 5 (9 campos por animal).

A)

B)

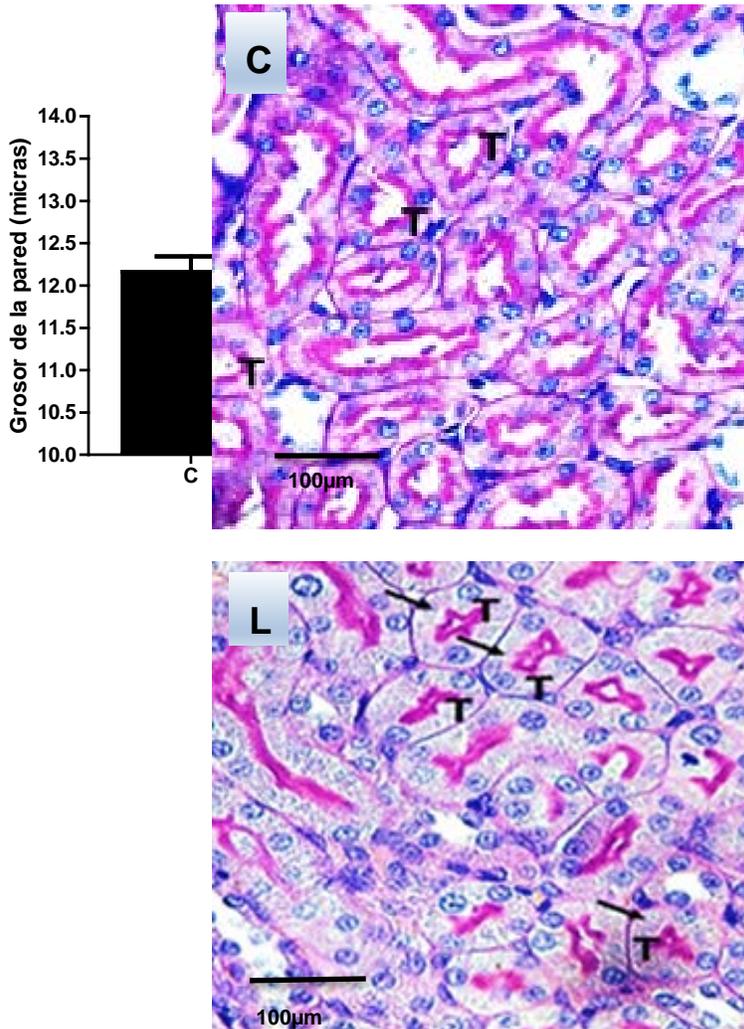


Fig. 2. Túbulos proximales renales de crías de ratas con y sin ligadura de arterias uterinas. Estudio realizado a las tres semanas del nacimiento A) Micrografías ópticas representativas de la corteza renal. Tinción PAS.400 X. T: túbulos proximales, Flechas: túbulos proximales hipertrofiados. B) Grosor de la pared de los túbulos proximales. C: crías de ratas sin ligaduras de arterias uterinas, L: crías de ratas con ligaduras de arterias

uterinas. * $p < 0,05$ (prueba t de Student). $n = 5$ (4 túbulos por campo, de 9 campos por animal).

Discusión

El menor peso corporal al nacimiento en las crías de las ratas sometidas a ligadura de las arterias uterinas durante la gestación, corrobora la obtención del biomodelo de BPN por insuficiencia vascular placentaria. A su vez, el mayor peso corporal de estos animales a las tres semanas de nacidos con respecto a sus controles, concuerda con lo reportado sobre la ganancia de peso acelerada después del nacimiento en los individuos con BPN. ⁽²⁶⁾

Los resultados de la presión arterial sistólica y diastólica confirman lo referido en la literatura ⁽²⁾ y sugieren que en los individuos con BPN la presión arterial puede incrementarse en edades muy tempranas de la vida. Se debe destacar que existen estudios que han demostrado una asociación inversa entre el peso al nacer y la presión arterial sistólica en la adultez cuando se produce un alto crecimiento de recuperación durante la infancia. Una nutrición intrauterina inadecuada tiene consecuencias perjudiciales, pero estas pueden modificarse en dependencia de la alimentación posterior al nacimiento. ⁽²⁷⁾ Esto evidencia la importancia de una nutrición adecuada, tanto prenatal como postnatal.

En el estudio se observó un mayor VPC en el grupo con BPN. Solo se encontró un trabajo previo que evaluó esta variable en el BPN, en el cual se encontró un incremento en ratas Sprague Dawley de 10 semanas de edad, cuyas madres fueron sometidas a una dieta multideficiente durante la gestación. ⁽²⁸⁾ Un mayor VPC provoca aumento de la presión de la sangre sobre las paredes de las arterias, ⁽⁸⁾ por

lo que este pudiera ser el mecanismo implicado en la mayor presión arterial en las crías con BPN del presente estudio.

Otras investigaciones en ratas con BPN han mostrado un peso renal menor al nacimiento ⁽²⁹⁾ y una relación peso renal/peso corporal sin diferencias con el control después del nacimiento. ⁽³⁾ Un resultado similar pudiera inferirse en el presente estudio, debido al menor número de glomérulos en el grupo con BPN y a la relación peso renal/peso corporal similar entre los grupos a las tres semanas de nacidos. Lo anterior sugiere que el peso renal de las ratas con BPN pudiera haberse incrementado después del nacimiento, debido a una compensación de la masa renal funcionante, como se evidenció por la hipertrofia glomerular y tubular proximal, así como por una función renal sin alteraciones. La hipertrofia glomerular ha sido descrita por otros autores, ⁽³⁾ pero no se encontraron reportes previos sobre la hipertrofia tubular proximal en estos animales.

Al combinar los resultados obtenidos en el presente estudio y la información disponible en la literatura, se pudieran resumir los cambios secuenciales que conducirían al incremento de la presión arterial a las tres semanas de nacidas las crías en el biomodelo utilizado (Figura 3).

La insuficiencia vascular placentaria provoca en la descendencia BPN y menor número de glomérulos. Esto conduciría a hiperfiltración compensatoria en las nefronas remanentes, lo que ocasionaría sobrecarga e hipertrofia glomerular, que se manifiesta por incremento del volumen glomerular. Con el tiempo, la hiperfiltración glomerular generaría sobrecarga tubular, que provocaría hipertrofia y aumento de la capacidad reabsortiva de esta estructura. La hipertrofia glomerular y tubular provocaría el aumento del peso renal después del nacimiento.

Por su parte, el aumento de la capacidad reabsortiva del riñón traería como consecuencia una mayor reabsorción de sodio y agua, que conduciría al aumento

del VPC y la presión arterial. Al aumentar la presión arterial, se incrementa la presión capilar glomerular, lo que normalizaría tanto la intensidad del filtrado glomerular como la excreción de sodio y agua. Estos cambios coinciden con la teoría de Guyton sobre el papel del riñón en el desarrollo de la HTA; ⁽⁸⁾ se normaliza la excreción de sodio y agua, pero a un mayor valor de presión arterial.

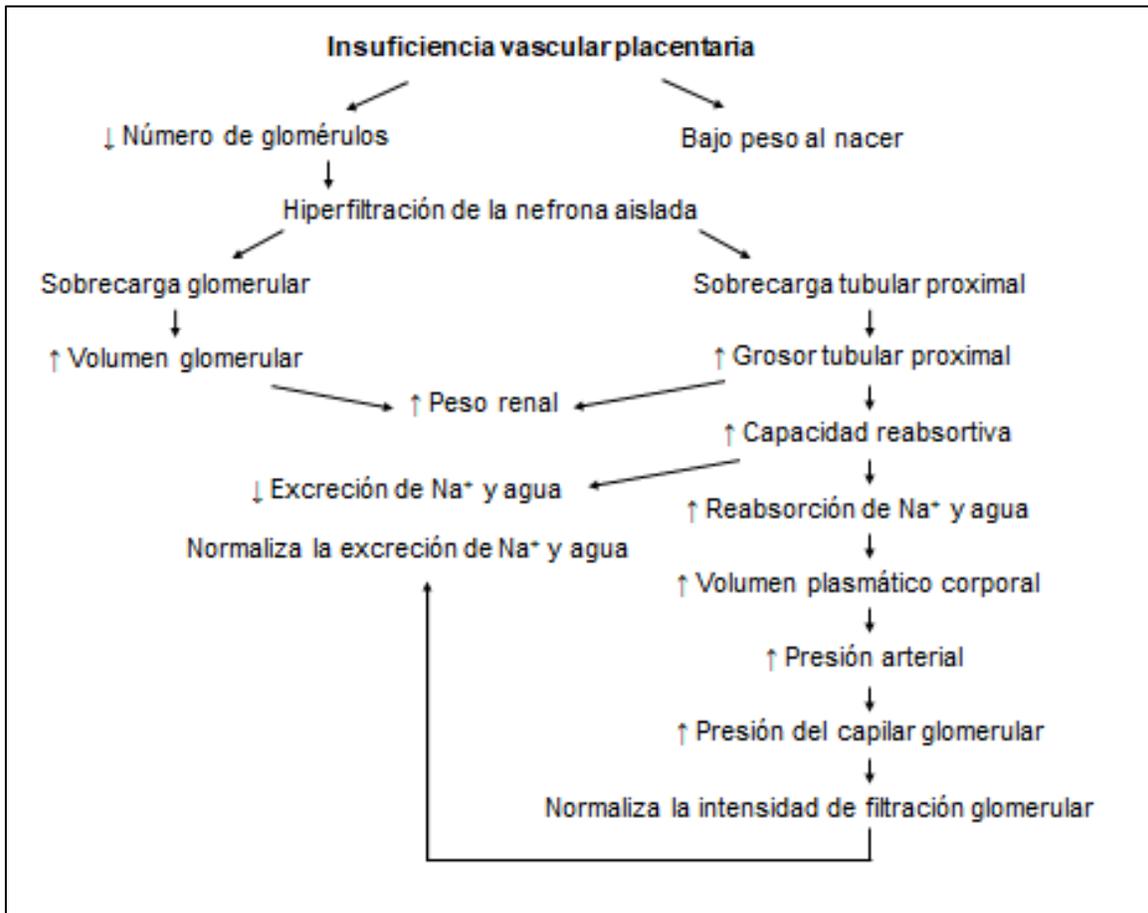


Fig. 3. Cambios que conducirían al incremento de la presión arterial en ratas con bajo peso al nacer y tres semanas de edad. Biomodelo de insuficiencia vascular placentaria en ratas Wistar, por ligadura de ambas arterias uterinas el día 16 de la gestación.

Por otra parte, se sabe que, además del renal, otros sistemas, como el cardiovascular, el nervioso y el endocrino, están implicados en el desarrollo de

enfermedades cardiovasculares a largo plazo. En animales y humanos con BPN se ha notificado deterioro de la estructura y función vascular, aumento de la actividad simpática, modificaciones en la actividad del sistema renina- angiotensina-aldosterona, resistencia a la insulina, hiperleptinemia e hiperglucemia. Estas alteraciones promueven la hipertensión sistémica y, a su vez, a largo plazo pueden afectar la estructura y función renal, por lo que pudieran ser consideradas en futuras investigaciones en el modelo utilizado.

En el estudio realizado se analizaron animales de tres semanas de nacidos y quedaría comprobar si desarrollan HTA en la adultez. Se ha postulado que las modificaciones renales causadas por la programación del desarrollo, predisponen a la HTA, pero que esta podría manifestarse después de un "segundo impacto", como la diabetes mellitus, la enfermedad renal primaria, la obesidad y la ganancia de peso acelerada en los BPN. ⁽⁵⁾ Lo anterior alerta sobre la importancia de un estilo de vida saludable en los individuos con BPN, que contribuya a evitar o reducir los factores de riesgo de la HTA en estos sujetos que ya presentan un "primer impacto renal".

Conclusiones

La insuficiencia vascular placentaria provoca cambios en los glomérulos y los túbulos proximales renales de ratas, que se evidencian a las tres semanas del nacimiento. Los cambios morfológicos provocan ajustes adaptativos en la función renal, que conducen al incremento de la presión arterial en estos animales.

Referencias bibliográficas

1. WHO. World health statistics 2023: monitoring health for the SDGs, sustainable development goals: World Health Organization; 2023.

2. Kanda T, Murai-Takeda A, Kawabe H, Itoh H. Low birth weight trends: possible impacts on the prevalences of hypertension and chronic kidney disease. Hypertens Res [Internet]. 2020 [cited 2022 sept 20]. Disponible en: <https://www.nature.com/articles/s41440-020-0451-z>.
3. Luyckx V, Moritz K, Bertram J. Programación del desarrollo de la presión arterial y la función renal a lo largo de la vida. In: Alan S, Chertow GM, Luyckx V, Marsden PA, Skorecki K, Taal MW, editors. Brenner y Rector El riñón. 1. 11 ed. Barcelona: Elsevier Health Sciences; 2021. p. 667-709.
4. Luyckx VA, Brenner BM. Clinical consequences of developmental programming of low nephron number. Anatomical record (Hoboken, NJ : 2007) [Internet]. 2019 [cited 2022 sept 16]; 303(10):[2613-31 pp.]. Disponible en: <https://anatomypubs.onlinelibrary.wiley.com/doi/pdfdirect/10.1002/ar.24270?download=true>.
5. Luyckx VA, Chevalier RL. Impact of early life development on later onset chronic kidney disease and hypertension and the role of evolutionary trade-offs. Experimental physiology [Internet]. 2022 16 may 2022 [cited 2022 sept 21]; 107(5):[410-4 pp.]. Disponible en: https://www.zora.uzh.ch/id/eprint/214838/1/Experimental_Physiology_-_2021_-_Luyckx_-_Impact_of_early_life_development_on_later_onset_chronic_kidney_disease_and.pdf.
6. Iturzaeta A, Tejeirab MMS. Programación temprana de la hipertensión arterial. Arch Argent Pediatr [Internet]. 2022 [cited 2023 dic 23]; 120(1):[e8-e16 pp.]. Disponible en: <https://pesquisa.bvsalud.org/portal/resource/en;/biblio-1353524>.
7. Singh RR, Denton KM, Bertram JF. Perinatal programming of arterial pressure. 2018 [cited 2023 may 15]. In: Pediatric Hypertension [Internet]. Springer, [cited

2023 may 15]; [135-58]. Disponible en:

https://link.springer.com/referenceworkentry/10.1007/978-3-319-31107-4_40.

8. Guyton AC, Hall JE. Función dominante de los riñones en el control a largo plazo de la presión arterial y en la hipertensión. In: Hall JE, editor. Tratado de Fisiología Médica. 14 ed. Barcelona: Elsevier Saunders; 2021. p. 229-44.

9. Bianchi ME, Restrepo JM. Low Birthweight as a Risk Factor for Non-communicable Diseases in Adults. *Frontiers in medicine* [Internet]. 2021 10 jun 2022 [cited 2022 sept 16]; 8:[793990 p.]. Disponible en:

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8770864/>.

10. Low Birth Weight Nephron Number Working G. The Impact of Kidney Development on the Life Course: A Consensus Document for Action. *Nephron* [Internet]. 2017 [cited 2024 ene 25]; 136(1):[3-49 pp.]. Disponible en:

<https://www.karger.com/Article/Pdf/457967>.

11. Vehaskari VM, Aviles DH, Manning J. Prenatal programming of adult hypertension in the rat. *Kidney International* [Internet]. 2001 [cited 2023 dic 24]; 59:[238-45 pp.]. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/11135076/>.

12. Bianchi G, Ferrari P, Cusi D. Genetic and experimental hypertension in the animal model-similarities and dissimilarities to the development of human hypertension. *J Cardiovas Pharmacol* [Internet]. 1986 [cited 2023 mar 22]; 8(Suppl.5):[S64-70 pp.]. Disponible en:

<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/2427888/>.

13. Decreto-Ley 31/2021 "De Bienestar Animal", Gaceta Oficial de la República de Cuba No. 25 Extraordinaria (10 de abril 2021).

14. Underwood W, Anthony R. AVMA guidelines for the euthanasia of animals: 2020 edition 2020 [cited 2023 dic 23]. Disponible en: https://www.spandidos-publications.com/var/AVMA_euthanasia_guidelines_2020.pdf.
15. Fernández Romero T, Suárez Román G, S CH. Protocolo para la citología vaginal directa de ratas de laboratorio. Rev haban cienc méd [Internet]. 2021 [cited 2022 mar 30]; 20(3):[e4086 p.]. Disponible en: <http://www.revhabanera.sld.cu/index.php/rhab/article/view/4086>.
16. Alfonso C, Tomé O. Obtención experimental de crías con crecimiento intrauterino retardado. Rev Cubana Cienc Vet 2000;26(1):39-41.
17. Andika M, Humaira V, Yesika R. Effects of Bisoprolol on Decreased Blood Pressure of Systole in Male White Rats Hypertension and Hypertension with Complications of Liver Dysfunction. IJPSM [Internet]. 2022 [cited 2022 mar 30]; 7(2):[1-6 pp.]. Disponible en: <https://acortar.link/xZxMHe>.
18. Guyton AC, Hall JE. Regulación de los compartimientos del líquido corporal: líquidos extracelular e intracelular; edema. In: Hall JE, editor. Tratado de Fisiología Médica. 14 ed. Barcelona: Elsevier Saunders; 2021. p. 305-20.
19. Schreiner GE. Determination of Inulin by Means of Resorcinol. Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine [Internet]. 1950 [cited 2022 mar 30]; 74(1):[117-20 pp.]. Disponible en: <https://journals.sagepub.com/doi/abs/10.3181/00379727-74-17827>.
20. Guyton AC, Hall JE. Reabsorción y secreción tubular renal. In: Hall JE, editor. Tratado de Fisiología Médica. 14 ed. Barcelona: Elsevier Saunders; 2021. p. 343-61.
21. Shalmi M, Thomsen K. Alterations of lithium clearance in rats by different modes of lithium administration. Kidney and Blood Pressure Research [Internet].

1989 [cited 2022 mar 30]; 12(4):[273-80 pp.]. Disponible en:

<https://www.karger.com/Article/Abstract/173200>.

22. Stamm D, Herrmann R. Microliter method for the flame photometric determination sodium, potassium and calcium with commercially used instrumentation. Z Klin Chem Klin Biochem. 1965 Dec;3(6):193-7.

23. Leyssac PP, Christensen P. A comparison between endogenous and exogenous lithium clearance in the anaesthetized rat. Acta Physiol Scand [Internet]. 1994 [cited 2016 dic 29]; 151(2):[173-9 pp.]. Disponible en:

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7942052>.

24. Lane PH, Steffes MW, Mauer SM. Estimation of glomerular volume: A comparison of four methods. Kidney International [Internet]. 1992 [cited 2023 may 25]; 41:[1085-9 pp.]. Disponible en:

<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0085253815575947?via%3Dihub>.

25. Ferreira T, Rasband W. ImageJ User Guide User Guide ImageJ 2019 [cited 2023 may 15]. Disponible en: <https://imagej.net/ij/docs/guide/user-guide.pdf>

26. Durá-Travé T, San Martín-García I, Gallinas-Victoriano F, Chueca-Guindulain MJ, Berrade-Zubiri S. Catch-up growth and associated factors in very low birth weight infants. Anales de Pediatría (English Edition) [Internet]. 2020 [cited 2024 ene 12]; 93(5):[282-8 pp.]. Disponible en:

<https://link.springer.com/article/10.1186/1471-2431-5-26>.

27. Pérez Mejías A, Claxton Louit M, Zumeta Dubé MT. Repercusión renal del bajo peso al nacer. Revista Habanera de Ciencias Médicas [Internet]. 2023 [cited 2024 feb 06]; 22(4). Disponible en:

<https://www.revhabanera.sld.cu/index.php/rhab/article/view/5169/3314>.

28. Magalhães JCG, Da Silveira AB, Mota DL, Paixão ADO. Renal function in juvenile rats subjected to prenatal malnutrition and chronic salt overload.

Experimental physiology [Internet]. 2006 [cited 2024 ene 12]; 91(3):[611-9 pp.].

Disponible en:

<https://physoc.onlinelibrary.wiley.com/doi/epdf/10.1113/expphysiol.2005.03299>

[5](#).

29. Wang Q, Yue J, Zhou X, Zheng M, Cao B, Li J. Ouabain regulates kidney metabolic profiling in rat offspring of intrauterine growth restriction induced by low-protein diet.

Life sciences [Internet]. 2020 15 jul 2022 [cited 2022 oct 5];

259:[118281 p.]. Disponible en:

<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S002432052031033X?via%3D>

[ihub](#).