

196
2 ej



Universidad Nacional Autónoma de México

FACULTAD DE CIENCIAS

EFFECTO DEL CAPTOPRIL SOBRE LA EXCRECION URINARIA
DE RENINA, ANGIOTENSINOGENO Y ENZIMA
CONVERTIDORA DE ANGIOTENSINA I EN RATAS CON
SINDROME NEFROTICO.

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE

B I O L O G A

P R E S E N T A:

Alma Angélica Sandoval Noriega

México, D. F.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

1990.



UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis está protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

RESUMEN

Las ratas con síndrome nefrótico (SN) inducido con aminonucleósido de puromicina (ANP) tienen altos niveles plasmáticos de renina y enzima convertidora de angiotensina I (ECA) y bajos niveles circulantes de angiotensinógeno. Además, la excreción urinaria de renina, angiotensinógeno y ECA aumentan considerablemente en estas ratas. El tratamiento con captopril hace más evidente los cambios en los niveles circulantes de renina y angiotensinógeno en las ratas con SN.

El objetivo de este trabajo fue conocer el efecto del captopril sobre la excreción urinaria de proteínas totales, angiotensinógeno, renina y ECA en ratas con SN inducido con ANP.

Se trabajó con dos grupos: el primero fue el grupo de ratas con síndrome nefrótico experimental (SNE), el cual se indujo con una inyección de ANP (15 mg/100 g de peso); el segundo fue el grupo de ratas con SNE (inducido por el método antes mencionado) tratadas con captopril (SNE+CAPT), el cual ingirieron en solución (500 mg/L) durante los 25 días que duró el experimento; el día cero se inyectaron todas las ratas y durante los siguientes días se recolectó la orina cada 24 h, el día 26 se decapitaron todas las ratas para obtener plasma y suero. En orina se midió: concentración de proteínas totales, concentración urinaria de renina (CUR), concentración urinaria de angiotensinógeno (CUA) y la actividad de ECA. En plasma se midió: concentración plasmática de renina (CPR) y concentración plasmática de angiotensinógeno (CPA). En suero se midió: concentración de proteínas totales y la actividad de ECA.

Los perfiles de proteinuria de ambos grupos fueron semejantes, lo cual indica que el captopril no afectó la excreción urinaria de proteínas y por tanto no afectó la BFG, donde el ANP produjo alteraciones, por lo que el daño permanece y la excreción de proteínas continúa. El captopril tampoco alteró la concentración de proteínas totales en suero por lo que podemos afirmar que el captopril no afecta la concentración sérica, ni la excreción de las proteínas totales por orina. Sin embargo, el captopril sí tuvo un efecto específico sobre los componentes del sistema renina angiotensina (SRA), ya que la excreción urinaria de renina y ECA fue mayor y la de angiotensinógeno fue menor en el grupo de ratas nefróticas tratadas con captopril que en el grupo de ratas nefróticas.

De lo anterior se concluye que el captopril afecta la excreción de los componentes del SRA, no por que altere la BFG, ya que no modificó el perfil de proteinuria, sino porque afecta directamente los niveles circulantes de renina, ECA y angiotensinógeno.

INDICE	Pags.
I. INTRODUCCION	1
1. BIOLOGIA DEL SISTEMA RENINA-ANGIOTENSINA	4
A) RENINA	4
B) ANGIOTENSINOGENO	8
C) ENZIMA CONVERTIDORA DE ANGIOTENSINA I (ECA)	9
D) ANGIOTENSINAS	10
E) INHIBIDORES	11
2. SINDROME NEFROTICO	13
A) BARRERA DE FILTRACION GLOMERULAR	13
B) SINDROME NEFROTICO	15
C) SINDROME NEFROTICO EXPERIMENTAL	17
II. ANTECEDENTES	19
III. HIPOTESIS	21
IV. OBJETIVO	22
V. MATERIAL Y METODOS	23
VI. RESULTADOS	26
VII. DISCUSION	34
VIII. CONCLUSIONES	40
IX. BIBLIOGRAFIA	41

ABREVIATURAS UTILIZADAS EN ESTE TRABAJO

AI	Angiotensina I
AII	Angiotensina II
ADR	Adriamicina
Ala	Alanina
ANDEVA	Análisis de varianza
ANP	Aminonucleósido de puromicina
BFG	Barrera de filtración glomerular
° C	Grados centígrados
CPA	Concentración plasmática de angiotensinógeno
CPR	Concentraciön plasmática de renina
C-terminal	Carboxilo terminal
CUA	Concentración urinaria de angiotensinógeno
CUR	Concentración urinaria de renina
d	Dalton (es)
dL	Decilitro (s)
ECA	Enzima convertidora de angiotensina I
E.C.	Enzyme Comission
EDTA	Acido etilendiamino tetra-acótico
et al.	Y colaboradores
Fig.	Figura
g	Gramo (s)
h	Hora
i. e.	Por ejemplo
Ile	Isoleucina
L	Litro (s)

M	Molar
MBG	Membrana basal glomerular
mg	Miligramo (s)
ml	Mililitro (s)
min	Minuto (s)
mU	Miliunidades
ug	Microgramos
N	Normal
ng	Nanogramos
PM	Peso molecular
RIA	Radioinmunoanálisis
SN	Síndrome nefrótico
SNE	Síndrome nefrótico producido por ANP
SNE+CAPT	Ratas con SNE tratadas con captopril
SRA	Sistema renina angiotensina

I. Introducción

I. INTRODUCCION

Los primeros pasos para el descubrimiento del sistema renina angiotensina (SRA) como tal se dieron con los trabajos de Goldblatt et al. en 1934 (citado en 1), quienes en una serie de experimentos clásicos (2-4), comprobaron que la hipertensión era de origen renal. Produjeron hipertensión en animales de laboratorio muy parecida a la que se presenta en humanos, colocando un clip de plata en ambas arterias renales (2 clips, 2 riñones) o bien sólo en una arteria (1 clip, 2 riñones). También demostraron que la hipertensión producida no involucraba la participación del sistema nervioso y que no podía bloquearse por la simpatectomía completa, ni por la destrucción de la médula espinal o por el trasplante del riñón isquémico denervado. Goldblatt y su grupo finalmente comprobaron que la hipertensión desaparecía si la vena renal era ocluida, el animal se volvía normotenso y eventualmente moría de uremia lo que hizo pensar que la elevación de la presión sanguínea también tenía bases humorales. A continuación procedieron a buscar este factor humoral el cual provenía del riñón.

La atención se dirigió hacia la renina descubierta por Tigersted y Bergman en 1898 (citado en 1), estos investigadores demostraron que el extracto salino de riñón de conejo aplicado a conejos producía una prolongada y sorprendente elevación de la presión sanguínea. Como la renina se encontraba en grandes cantidades en riñón se esperaba que esta fuera el agente causal de la hipertensión arterial.

Sin embargo, en 1938 Friedman et al. (citado en 1) encontraron que la renina, por si misma, no tenía un efecto vasoconstrictor. Dos años más tarde dos grupos de investigadores Page y Helmer en los Estados Unidos y Braun-Menéndez en Argentina descubrieron que la renina actuaba sobre una sustancia presente en plasma para producir otra estable al calor, dializable, y con un efecto presor, a esta sustancia Page y Helmer la nombraron angiotonina, mientras Braun-Menéndez y su grupo la llamaron hipertensina. Al reconocer a ambas como la misma sustancia se acordó utilizar el término angiotensina (citado en 5).

Actualmente se sabe que el angiotensinógeno, la renina, y la enzima convertidora de angiotensina I (ECA) actúan en cascada para producir secuencialmente a la angiotensina I y a la angiotensina II (AII), todos estos componentes constituyen el sistema renina angiotensina (SRA) (Fig 1), el cual está directamente involucrado en la regulación de la presión sanguínea y en el balance de electrolitos y agua.

El SRA actúa de la siguiente manera: la renina, una de las dos enzimas más importantes del sistema se produce principalmente en el riñón y actúa sobre el angiotensinógeno, el cual se sintetiza principalmente en el hígado, el resultado de esta hidrólisis es la AI, este deca péptido tiene poca o nula actividad biológica y constituye el sustrato de la segunda enzima de la cascada, es decir de la ECA, la cual es sintetizada en grandes cantidades en pulmón y remueve dos aminoácidos (His-Leu) del extremo carboxilo de la AI formando una hormona biológicamente activa, la AII. La actividad del SRA es

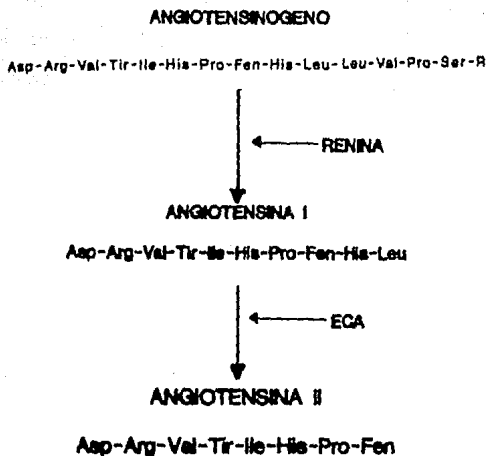


Figura 1. Biosíntesis de AII. Tomado de Ganong WP, Fisiología Médica 373 (1982).

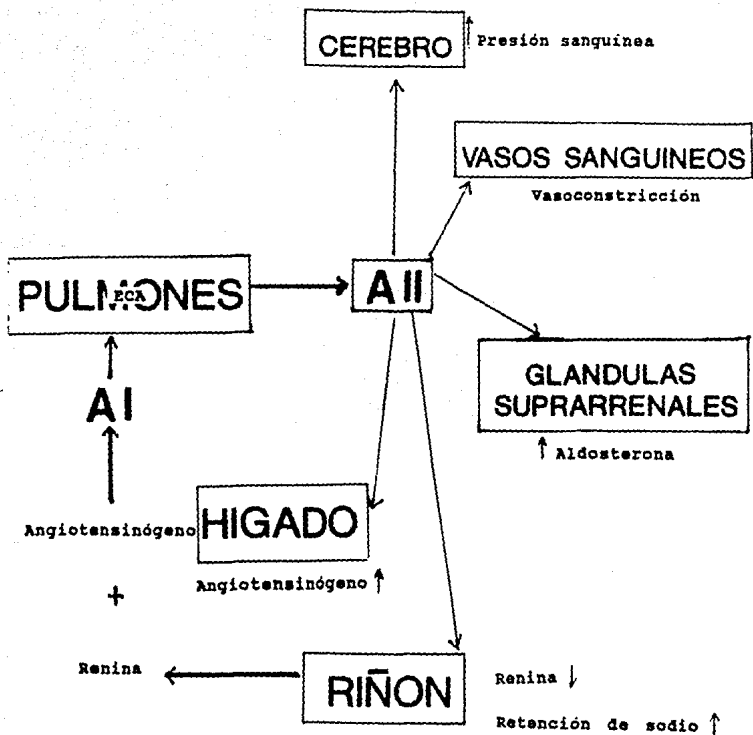


Figura 2. El sistema renina angiotensina

controlada principalmente por la velocidad de liberación de renina. La ECA no actúa como un regulador del sistema (6), sin embargo, se puede hacer una interrupción efectiva de la cascada en este paso por métodos farmacológicos lo cual tiene gran utilidad clínica (figs. 1 y 2) (5,7,8).

Recientemente algunos investigadores han demostrado por medio de modernas técnicas bioquímicas y de biología molecular la expresión de los genes de renina y angiotensinógeno en gran variedad de tejidos, lo que pone en discusión que únicamente sea el SRA ya conocido el que actúa, ya que la expresión local del SRA puede estar involucrado en una función específica de cada tejido (9-16).

1. BIOLOGIA DEL SISTEMA RENINA-ANGIOTENSINA.

A) RENINA

La renina es una de las enzimas del SRA, se sintetiza en las células yuxtglomerulares del riñón, las cuales son células modificadas de músculo liso de la arteriola aferente, que están adyacentes al glomérulo, tienen características de células secretoras tales como un retículo endoplásmico rugoso bien desarrollado, un aparato de Golgi prominente y gránulos que contienen renina, están ricamente inervadas por fibras simpáticas y son particularmente sensibles a cambios de presión sanguínea. Estas células granulares y la mácula densa (una porción del túbulo distal que está en contacto con las células yuxtglomerulares) forman el aparato yuxtglomerular (fig 3). La renina también se ha localizado en tejidos de otros órganos tales como cerebro, pituitaria anterior, útero, arterias,

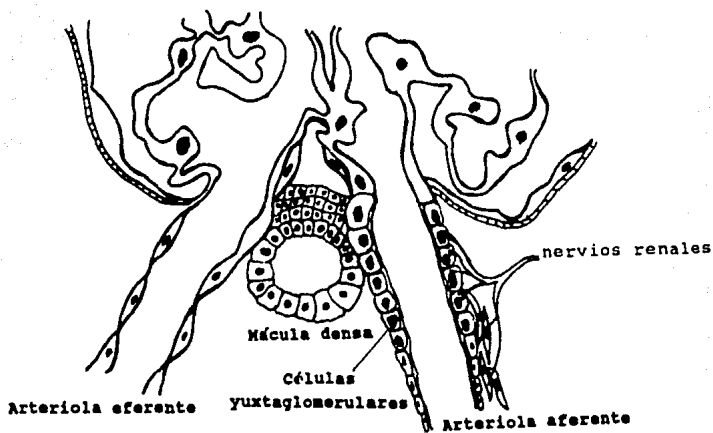


Figura 3. Esquema del aparato yuxtaglomerular. Tomado de Vander AJ. Fisiología renal 17 (1986).

corteza suprarrenal, hipotálamo y glándula submandibular (17).

La liberación de renina está controlada por varios factores: a) barorreceptores intrarrenales que responden a cambios en la presión sanguínea; b) la cantidad de ión sodio (o probablemente cloruro) que pasa por el segmento mácula densa del túbulo distal; c) el sistema nervioso simpático y las catecolaminas circulantes; d) otros estímulos como la concentración de potasio en suero, AII, prostaglandinas, kininas, histamina, hormona paratiroidea, adenosina y hormona antidiurética (18). La secreción de renina por parte de las células yuxtglomerulares se da en respuesta a una caída en la presión arterial, provocando la producción de AII, la cual eleva la presión sanguínea hasta valores normales, lo que es detectado por barorreceptores intrarrenales que junto con la cantidad extra de sodio en sangre actúan por un sistema de retroalimentación negativa sobre las células yuxtglomerulares para que disminuyan su actividad secretora.

La renina (EC 3.4.99.19.) se clasifica como una proteasa ácida, a pesar de que es activa a un pH neutro, debido a que tiene ácido aspártico en su sitio activo y a que es inhibida por pepstatina (un inhibidor de proteasas ácidas). Tiene dos grupos carboxilo que provienen de los residuos aspárticos en el sitio activo que son esenciales para su función catalítica. A diferencia de todas las demás aspartil proteasas que son inespecíficas, esta es altamente selectiva para su sustrato. Es una glucoproteína cuya porción proteínica tiene un peso molecular de 37,235 d (5). El pH óptimo al que reacciona con su sustrato es de 5.5 a 5.6.

Se ha logrado estudiar la síntesis de renina en la glándula submandibular de ratón, donde se produce un tipo de renina semejante a la renina renal. En primer lugar la renina se sintetiza como preproenzima la cual pasa por retículo endoplásmico y se convierte en prorrenina, posteriormente esta es procesada en el aparato de Golgi y se convierte en renina la cual se empaqueta en gránulos (8).

En plasma se encuentra renina activa e inactiva, esta última constituye más de la mitad de la renina circulante y, al igual que la activa, se secreta de las células yuxtglomerulares (8). La renina inactiva puede activarse por incubación en frío, tratamiento con ácido o con enzimas proteolíticas (tripsina, pepsina, kalikreina). Esto tiene por objeto exponer el sitio activo de la enzima para que reaccione con su sustrato, el angiotensinógeno (7,8,19).

B) ANGIOTENSINOGENO

El sustrato de renina o angiotensinógeno es una alfa-2-globulina, sintetizado principalmente en hígado (20), sin embargo, se tiene información de que está presente en otros tejidos tales como riñón (20) y cerebro (21). Su concentración en plasma es de 4-7 mg/ml (20) y su PM es de 49,548 d (molécula libre de carbohidratos). Es una molécula estructuralmente muy relacionada con alfa-1-antitripsina, con antitrombina III y con ovoalbúmina (7). La producción de angiotensinógeno está sujeta a un mecanismo de retroalimentación por los componentes del SRA, ya que es estimulada por la AII. Otros factores que estimulan su producción son glucocorticoides, estrógenos, tiroxina y con la binefrectomía. Por el contrario, la tiroidectomía, la

adrenalectomía y la cirrosis hepática disminuyen el nivel plasmático de angiotensinógeno (7).

La renina actúa sobre el angiotensinógeno en la unión
10 11
Leu-Leu, liberando un oligopéptido de su extremo amino para producir el decapeptido conocido como AI, sustrato de la ECA.

C) ENZIMA CONVERTIDORA DE ANGIOTENSINA I (ECA)

La ECA fue descubierta a mediados de 1950 en plasma de caballo (18,22). Posteriormente se estableció que la mayor cantidad de ECA se sintetiza en pulmón (23), localizándose en la superficie luminal de las células endoteliales de los capilares. La ECA se encuentra en los lechos vasculares de virtualmente todos los órganos (24-28), lo que también apoya la idea de un SRA local (29). Hasta ahora se desconoce el mecanismo de biosíntesis de dicha enzima (30).

La ECA es una glucoproteína monomérica con un PM entre 130,000-150,000 d, contiene un 26% de carbohidratos y necesita del ión zinc para su actividad por lo que se considera como una metalopeptidasa transmembranal (inhibida por EDTA). Su actividad es óptima a pH 8.3 y depende de la presencia de iones cloruro (26).

La ECA (EC 3.4.15.1.) cataliza la hidrólisis de muchos péptidos pero su afinidad para diferentes sustratos varía, es considerada como una dipeptidil-dipeptido-hidrolasa ya que remueve el dipéptido C-terminal de una cadena polipeptídica. Se dice que tiene un efecto dual en la regulación de la presión vascular, pues remueve el dipéptido His-Leu C-terminal de la AI liberando el vasoconstrictor AII, e inactiva al péptido

vasodilatador bradicinina por lo que también se le llama cinasa II, es decir, tiene un papel muy importante en dos sistemas que regulan la presión vascular (31-33) el SRA y el sistema kalicreína-cinina.

La AI es convertida en AII por la ECA durante la circulación de plasma por pulmón principalmente, sin embargo, la enzima puede afectar la función de un órgano por la formación y liberación de AII localmente (31).

D) ANGIOTENSINAS.

La AI es fisiológicamente inactiva, sin embargo, algunas observaciones sugieren que es capaz de estimular la liberación de catecolaminas de la médula adrenal (8), otros autores sugieren que este decapeptido actúa directamente en el flujo sanguíneo del riñón y en la síntesis de esteroides, sin embargo, esto no se ha comprobado y mientras tanto estas funciones se le han adjudicado a la AII (7). Lo que sí es un hecho es que la AI constituye el sustrato de ECA para la producción de AII.

La AII es un octapeptido fisiológicamente activo, es uno de los vasoconstrictores más potentes encontrados en mamíferos. Las acciones fisiológicas que tiene este compuesto son: a) un potente efecto vasoconstrictor sobre las paredes musculares de las arteriolas disminuyendo las luces arteriolas lo que eleva la presión arterial del sistema circulatorio en conjunto, b) estimula la corteza suprarrenal provocando la liberación de aldosterona que a su vez promueve la reabsorción de sodio y agua en las porciones tubulares de las nefronas, aumentando la cantidad de líquido en el sistema circulatorio, c) actúa directamente en el cerebro para incrementar la presión sanguínea

mediante el sistema nervioso simpático y parasimpático para estimular la sed, la secreción de vasopresina y de la hormona adrenocorticotrópica, d) inhibe la secreción de renina, e) estimula la secreción de angiotensinógeno, f) altera la velocidad de filtración glomerular (34); es decir, que el producto final del SRA mantiene en equilibrio la cantidad de líquidos, los niveles de sal y la presión sanguínea. La vida media de la AII circulante es corta (30 seg) debido a que sufre una rápida degradación por angiotensinasas. Su producción continua depende de la concentración de angiotensinógeno en sangre, la cual es constante y principalmente de la cantidad de renina circulante que requiere de un estímulo constante para su secreción.

E) INHIBIDORES.

Los componentes del SRA así como los efectos que algunos de estos tienen han podido conocerse gracias a la utilización de inhibidores que bloquean su producción o su acción.

La cascada del SRA tiene varios sitios de inhibición selectiva. Entre ellos se encuentran:

- a) Los receptores de AII que son bloqueados por los análogos de AII, i.e. los octapéptidos $(\text{Sar}^1, \text{Thr}^8)$ -AII, $(\text{Sar}^1, \text{Ala}^9)$ -AII, $(\text{Sar}^1, \text{Ile}^8)$ -AII (35,36), que actúan como antagonistas pues compiten con la angiotensina por el sitio receptor en el músculo vascular, en la corteza suprarrenal y en el sistema nervioso, es decir tienen un efecto antihipertensivo (37).
- b) Los receptores adrenérgicos, donde se puede limitar la liberación de renina. La estimulación de los receptores beta-adrenérgicos aumenta la secreción de la enzima por lo que se utilizan bloqueadores beta-adrenérgicos para inhibirla (i.e.

propranolol). Por otra parte la estimulación de los receptores alfa-adrenérgicos inhibe la producción de renina por lo que se utilizan agonistas alfa-adrenérgicos para estimular dichos receptores e inhibir la producción de la enzima (6).

c) A nivel de la interacción de la renina con el angiotensinógeno. La renina es muy específica para su sustrato por lo que su acción puede ser inhibida con péptidos análogos del angiotensinógeno, pepstatina o anticuerpos antirenina (6).

d) Otro sitio donde se puede inhibir el SRA es a nivel de la ECA ya que se bloquea la transformación de AI a AII. Los inhibidores de la ECA fueron descubiertos originalmente del veneno de la serpiente sudamericana Bothrops jararaca que inhibe específicamente esta enzima (38). Estudios subsecuentes han dado a conocer otros inhibidores específicos para la ECA como son el captopril (SQ 14225) (35) y el enalapril (MK-421) (39). Muchos investigadores afirman que algunos inhibidores de la ECA como el captopril, además de inhibir la actividad de esta enzima estimulan su producción (23, 30, 40).

El captopril, D-3-mercapto-2-metilpropanoil L-prolina, es oralmente activo y tiene un efecto antihipertensivo neto (41,42), pues al inhibir a la ECA disminuye la producción de AII (vasoconstrictor) lo que a su vez provoca una baja en la producción de aldosterona, además, evita la inactivación del péptido vasodilatador bradicinina. Este compuesto es un inhibidor competitivo y específico de la ECA, ya que posee grupos funcionales que se relacionan con los grupos funcionales de la enzima estableciendo interacciones estereo y regioespecíficas

(fig. 4). El grupo carboxilo interacciona electrostáticamente con un grupo catiónico derivado probablemente de un residuo de Arg sobre la superficie de la enzima. El grupo carbonilo forma un enlace de hidrógeno en el cual el átomo de oxígeno que proviene del captopril funciona como un aceptor del hidrógeno que proviene de la enzima. El grupo sulfhidrilo llega a ser uno de los ligandos del ión zinc que forma un complejo en el sitio activo. El anillo de pirrolidina del residuo de prolina y el sustituyente metilo alfa del residuo mercaptopropanoilo contribuyen a afianzar la interacción con la enzima restringiendo la movilidad y el grado de libertad del inhibidor y probablemente también a través de las interacciones hidrofóbicas con la superficie de la enzima (43).

2. SINDROME NEFROTICO.

A) BARRERA DE FILTRACION GLOMERULAR (BFG).

El riñón regula la concentración de las sustancias del líquido extracelular por medio de un proceso de filtración que se realiza a nivel de cada una de sus nefronas; la función principal de cada una de estas estructuras es la de "limpiar" o depurar el plasma sanguíneo de sustancias que en exceso son tóxicas para el organismo cuando se acumulan, i.e. productos terminales del metabolismo como urea y creatinina, iones sodio, cloro, etc. (44,45). Esto se logra cuando el plasma es obligado a pasar (por la presión hidrostática) a través de la membrana de los capilares del glomérulo, donde las moléculas transportadas encuentran una barrera, la BFG constituida por un endotelio de células fenestradas, una membrana basal glomerular (MBG) compuesta de glucopéptidos y una capa de células epiteliales con

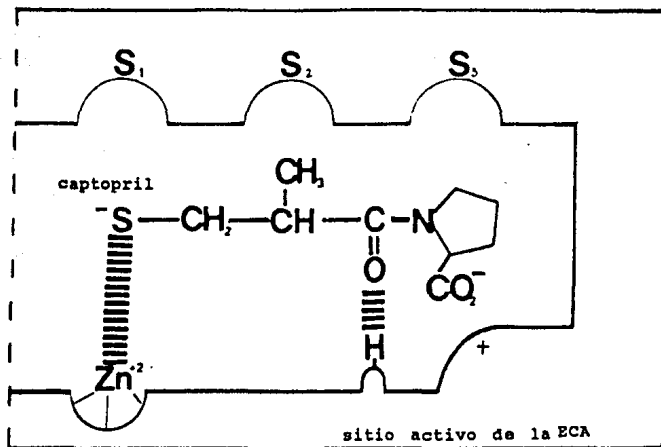


Figura 4. Interacción del captopril con el sitio activo de la ECA. Tomado de Wyvratt M, 4:488 (1985).

prolongaciones, llamadas podocitos (Fig 5).

Existen dos tipos de barreras para el paso de una molécula a través de la BFG: a) la barrera de tamaño que depende del radio y estructura de la molécula, su existencia se ha comprobado utilizando moléculas de dextrán neutro de varios tamaños y midiendo su depuración en orina; b) la barrera de carga que depende de la carga de la molécula, se ha demostrado que la depuración de sulfato de dextrán cargado negativamente es menor a la del dextran neutro de tamaño equivalente (46).

La BFG es lo suficientemente porosa para que se filtren por ella agua y casi todos los componentes disueltos en el plasma, excepto las proteínas debido a la barrera de carga y de tamaño antes mencionadas. Sin embargo, en algunas glomerulopatías, como por ejemplo en el SN, la BFG es afectada profundamente, lo que trae como consecuencia el paso de proteínas a través de ella y por tanto la excreción de estas por orina (proteinuria).

B) SINDROME NEFROTICO (SN).

El SN se caracteriza por proteinuria, albuminuria, hipoproteinemia, disminución de la presión coloidosmótica, ascitis, edema, lípiduria, retención de sodio, hipercolesteronemia e hiperlipoproteinemia (47-50). Es frecuente en niños, sin embargo en este caso el origen es desconocido (SN primario) (51). En adultos se da a consecuencia de glomerulonefritis, amiloidosis, lupus eritematoso ó diabetes mellitus (52).

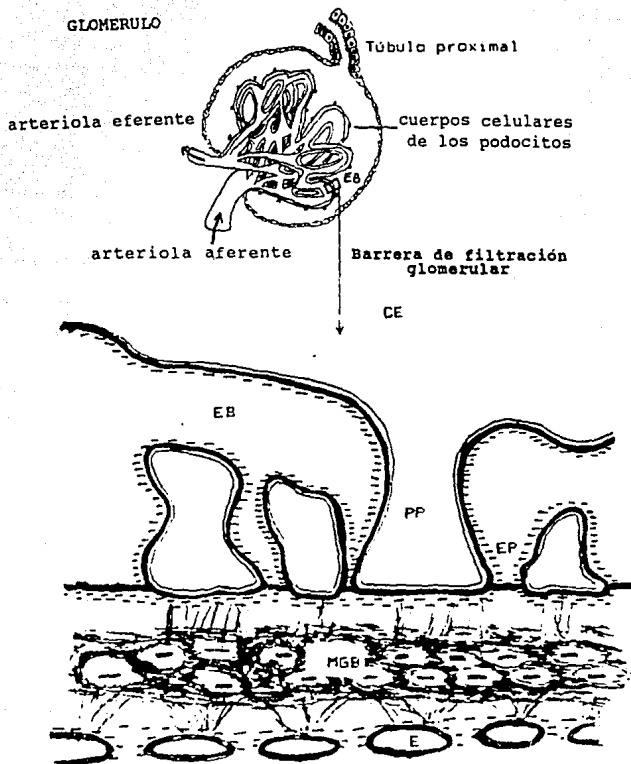


Figura 5. Esquema de la barrera de filtración glomerular. E=Endotelio perforado, MGB= Membrana basal glomerular, PP= Procesos podocíticos, EP= Espacios entre los procesos podocíticos, CE= Células epiteliales o podocitos, EB= Espacio de Bowman. La carga negativa esta marcada por signos -. Notese la característica fibrilar del centro de la MGB. Tomado de Morris J et al. 30:215 (1979).

Entre las proteínas que se eliminan por orina se encuentra la albúmina, cuya síntesis no puede compensar su pérdida por orina lo que produce hipoalbuminemia. Muchas otras proteínas también son excretadas por orina provocando hipoproteinemia que trae como consecuencia una disminución en la presión coloidosmótica de los capilares y por tanto un movimiento del líquido vascular hacia los espacios intersticiales originando edema y ascitis lo que repercute en una disminución del volumen plasmático lo que a su vez estimula a los receptores encargados de la retención del sodio.

C) SINDROME NEFROTICO EXPERIMENTAL.

Para poder estudiar el SN se han diseñado varios modelos experimentales entre ellos se encuentran los producidos por inyección de: a) suero antirriñón (nefritis por suero nefrotóxico o nefritis de Heyman) (53), b) aminonucleósido de puromicina (ANP) (54, 55), c) adriamicina (ADR) (56), y d) daudomicina (57).

El ANP puede producir SN crónico y SN agudo. El primero se induce por inyecciones intravenosas a bajas dosis (5 mg/100 g) y se encuentra asociado a proteinuria crónica y daño irreversible. El SN agudo se induce por una o varias inyecciones subcutáneas o intraperitoneales que van de 50 a 150 mg/kg de peso corporal total, lo que desencadena una proteinuria masiva y SN al término de 7 a 14 días después de su aplicación, aproximadamente 3 semanas después la proteinuria disminuye y a las 6 semanas desaparece, es decir este modelo es reversible, y ya se ha caracterizado y utilizado en el laboratorio debido a la

semejanza que tiene con la enfermedad que se presenta en humanos (58,59).

Aún se desconoce el mecanismo por el cual el ANP actúa para producir el SN. Sin embargo, se ha observado que el ANP reduce la barrera electrostática de polianiones circulantes, además de que existe una degeneración de los procesos podocíticos con desprendimiento del epitelio de la MBG. El SN producido por ANP constituye un ejemplo donde está afectada la barrera de carga de la BFG, en tanto que la barrera de tamaño puede ser afectada por la aplicación de ADR (60, 61).

II. Antecedentes

II. ANTECEDENTES

Se ha observado que durante el SN producido por ANP los niveles plasmáticos de angiotensinógeno disminuyen y los de renina y ECA aumentan (62-65). Se piensa que los cambios en la renina plasmática son consecuencia de la disminución del volumen plasmático provocado por cambios en la presión coloidosmótica por la pérdida de proteínas, lo que estimula su síntesis. La disminución en la concentración plasmática de angiotensinógeno se puede deber a varios factores: a un aumento en el catabolismo de la molécula o a la pérdida de esta por orina (62). Durante el SN también se afecta la actividad de la ECA en suero posiblemente porque existe un daño hepático lo que provoca una disminución en el catabolismo de la enzima y por tanto el aumento de su concentración en sangre lo que se detecta en suero como un aumento en su actividad (51).

El patrón de excreción urinaria de angiotensinógeno y renina durante el SN se ha estudiado recientemente en nuestro laboratorio. El angiotensinógeno es detectado antes que la renina, la concentración de ambos aumenta conforme avanza la enfermedad, alcanzando un pico máximo para disminuir posteriormente. Ninguno de estos perfiles coinciden con el de proteinuria, pues los niveles de ambas moléculas disminuyen cuando la proteinuria aun continúa (66). La ECA también se ha detectado en orina (51).

Por otro lado el captopril se ha usado ampliamente para la eliminación de la proteinuria en enfermedades que se presentan

en humanos tales como hipertensión renovascular, nefropatía diabética y también en modelos experimentales de diabetes mellitus inducida en ratas con estreptozotocina, hipertensión renovascular en ratas, etc (67-70); algunos investigadores han observado que dicho inhibidor reduce la proteinuria durante el SN producido por el ANP (71, 72), otros, sin embargo, han comprobado que el captopril no tiene efecto sobre la proteinuria durante el SN (6, 73). Lo que sí es un hecho es que el captopril afecta en gran medida el SRA (circulante). Una característica muy importante de este inhibidor de la ECA es que estimula la producción de esta enzima (23,30,40).

En ratas normales tratadas con captopril se ha observado que la concentración plasmática de angiotensinógeno disminuye (64) esto tal vez se deba a un aumento de su consumo por los altos niveles de renina, la cual aumenta durante este tratamiento, y a un efecto directo del inhibidor sobre la secreción de angiotensinógeno (72).

En modelos experimentales de SN donde se ha usado el captopril como inhibidor, los niveles plasmáticos de renina aumentan y los de angiotensinógeno disminuyen en una mayor proporción que en el SN solo (6, 71), probablemente estos eventos se vean reflejados en orina, lo cual se tratará de comprobar en este trabajo.

III. Hipótesis

III. HIPOTESIS

Si la renina y el angiotensinógeno se excretan en ratas con SN y si el captopril hace más evidente el aumento de renina y la disminución de angiotensinógeno en el plasma de rata con SN, se espera que la excreción urinaria de renina sea mayor y la de angiotensinógeno menor en ratas con SN tratadas con captopril.

Si la ECA se excreta por la orina de ratas con SN y el captopril aumenta los niveles circulantes de dicha enzima, se espera que la excreción urinaria de la ECA sea mayor en las ratas nefróticas tratadas con captopril.

IV. Objetivo

IV.OBJETIVO

Estudiar el efecto del captopril sobre la excreción urinaria de proteínas totales, renina, angiotensinógeno y ECA en ratas con SN experimental.

V. Material y métodos

V. MATERIAL Y METODOS

1. DISEÑO EXPERIMENTAL

Se trabajó con 30 ratas macho (Rattus norvegicus; de la cepa Wistar) con un peso de 100-130 g.

Se formaron 2 grupos. El grupo SNE (síndrome nefrótico experimental) estuvo constituido por 10 ratas a las cuales se les indujo SN con una inyección subcutánea de ANP (Sigma Chemical Co. St. Louis, Mo.) en una dosis de 15 mg/100 g de peso corporal usando como vehículo NaCl 0.9%, la cual fue aplicada el día cero. El grupo SNE+CAPT estuvo formado por 20 ratas a las que también se les indujo SNE (usando el método antes mencionado) pero que además ingirieron captopril disuelto en agua en una concentración de 0.5 g/L, la dosis aproximada por animal fue de 5 mg/100 g/día (donado por E.R. Squibb & Sons de México S. A. de C. V.). El número de ratas en cada grupo varía debido al porcentaje de mortalidad observado anteriormente (grupo SNE 13%, grupo SNE+CAPT 37%) (73). Las ratas se mantuvieron en jaulas metabólicas durante los siguientes 25 días para obtener la orina cada 24 horas, la cual se midió (volumen), se centrifugó (centrifuga refrigerada IEC PR-6000) y se congeló (congelador Revco de -70 C). Terminado el experimento las ratas se decapitaron (guillotina de Harvard Apparatus Co.) y se obtuvo plasma y suero.

2. ANALISIS.

En las orina se determinó la concentración de proteínas totales por el método de Lowry (74). La concentración urinaria de renina (CUR) se midió indirectamente por radioinmunoanálisis

(RIA) de AI (contador de radiaciones Gammacord II Micromedic System) después de la incubación de la muestra a pH 6 durante una hora a 37 C (baño de agua Precisión GSA Corporation) agregando un exceso de sustrato para agotar toda la renina (como sustrato se utilizó el plasma de ratas binefrectomizadas) (75-78). La concentración urinaria de renina (CUA) se midió por RIA de AI después de incubar la muestra durante una hora a 37 C, a pH 6 y con un exceso de renina porcina para agotar todo el angiotensinógeno (75). La incubación se hizo en presencia de la siguiente mezcla de inhibidores: EDTA (2.6 mM concentración final), 8-OH sulfato de quinolina (3.4 mM concentración final) y dimercaprol (1.8 mM, concentración final), con el fin de proteger a la renina, al angiotensinógeno y a la AI de proteasas presentes en orina. La excreción urinaria de renina y de angiotensinógeno se calculó multiplicando la CUR ($\mu\text{g AI/ml/h}$) y la CUA ($\mu\text{g AI/ml/h}$) por el volumen urinario de 24h (6).

Fue necesario dializar las muestras de orina (bolsas de diálisis Spectrapor con un tamaño de poro de 6,000 d) contra una solución 0.9% de NaCl, para determinar la actividad de ECA en orina, lo cual se realizó por un método radioquímico utilizando como sustrato hipurato de histidil leucina (Du Pont New England, Boston, Mass.) cada 2 días.

En plasma se midió la concentración plasmática de renina (CPR) y la concentración plasmática de angiotensinógeno (CPA) por RIA de AI. En suero se determinó la concentración de proteínas totales y la actividad de la ECA.

3. ANALISIS ESTADISTICOS.

Los resultados están expresados como la media \pm error estándar. Se hicieron análisis de varianza (ANDEVA) de mediciones repetidas para las pruebas en orina y, para los análisis en suero y plasma se utilizó la prueba de t (calculadora Hewlett Packard modelo 41CV).

VI. Resultados

VI. RESULTADOS

1. PROTEINAS URINARIAS.

En la figura 6 se presentan los perfiles de proteinuria de ambos grupos. La concentración de proteínas en orina aumentó después del día 4, y los picos máximos de ambos grupos alcanzaron valores aproximados a 300 mg/día, el grupo SNE en el día 13 y el grupo SNE+CAPT en el día 10. En los siguientes días la concentración de proteínas disminuyó en ambos grupos, sin embargo, al final del experimento no se alcanzaron los valores basales. Según el ANDEVA los perfiles de ambos grupos no son diferentes, lo cual indica que el captopril no afectó la excreción urinaria de proteínas totales durante el SN.

2. CONCENTRACION URINARIA DE RENINA (CUR).

En la figura 7 se presenta el perfil de la excreción urinaria de renina de ambos grupos. En los dos la CUR comenzó a aumentar después del día 6, sin embargo, conforme transcurrieron los días las diferencias entre los valores de uno y otro grupo se hicieron más evidentes. Los niveles más altos de renina se presentaron en el grupo SNE+CAPT, alcanzando el valor máximo de 10.525 $\mu\text{g AI/día}$ en el día 12, en tanto que el grupo SNE solo alcanzó como valor máximo 0.807 $\mu\text{g AI/día}$ en el día 11. Finalmente, ambos grupos regresaron a los valores basales alrededor del día 17. El ANDEVA indica que la diferencia entre los grupos es estadísticamente significativa lo que indica que el captopril potenció el aumento de la excreción urinaria de renina durante el SN.

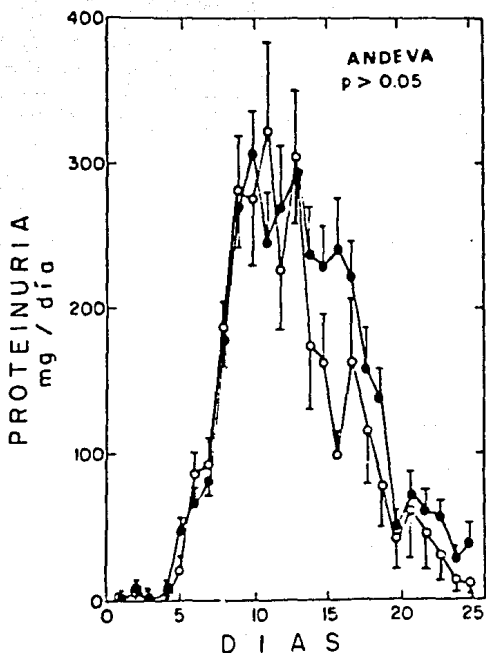


Figura 6. Perfil de proteinuria. Grupo SNE (O-O-O-O) y grupo SNE+CAPT (●-●-●-●).

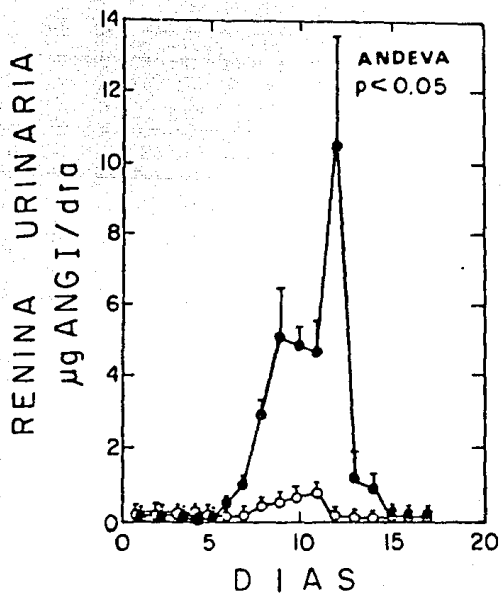


Figura 7. Perfil de la excreción urinaria de renina. Grupo SNE (O-O-O-O) y grupo SNE+CAPT (●-●-●-●).

3. CONCENTRACION URINARIA DE ANGIOTENSINOGENO.

En la fig 8 se presentan los perfiles de la concentración urinaria de angiotensinógeno, los cuales son muy diferentes a partir del día 6, cuando la concentración de angiotensinógeno en orina comienza a aumentar. El grupo SNE presentó mayor excreción urinaria de angiotensinógeno alcanzando el valor máximo de 6.226 $\mu\text{g}/\text{día}$ en el día 9, en tanto que el grupo SNE+CAPT solo excretó 1.398 $\mu\text{g}/\text{día}$ como máximo en el día 10. Posteriormente la excreción urinaria de angiotensinógeno disminuyó en ambos grupos, regresando a los valores basales en el día 19. El ANDEVA muestra que la diferencia entre los dos grupos es significativa, lo cual indica que el captopril disminuyó la excreción urinaria de angiotensinógeno en las ratas nefróticas.

4. ENZIMA CONVERTIDORA DE AI EN ORINA (ECA).

En la figura 9 se presentan los perfiles de ECA. En ambos grupos la actividad de la ECA fue detectada hasta el día 4, a partir del día 6 la actividad de la enzima aumentó más en el grupo SNE+CAPT, el cual obtuvo 157 mU/día como valor máximo en el día 12, en tanto que el grupo SNE sólo alcanzó el valor máximo de 51 mU/día en el mismo día. Los grupos regresaron a valores basales alrededor del día 20. El ANDEVA indica que la diferencia entre ambos grupos es significativa, lo que indica que el captopril aumentó la concentración urinaria de ECA en las ratas nefróticas.

5. PROTEINAS TOTALES EN SUERO

En la tabla I se observa que la concentración de proteínas totales no fue diferente entre los grupos por lo que se

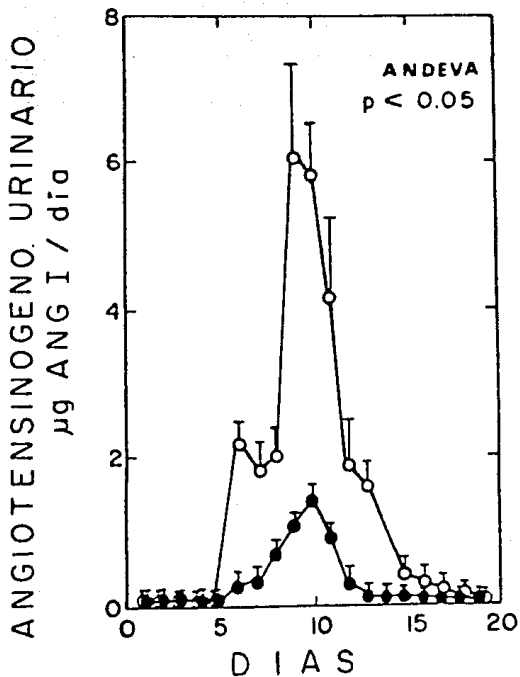


Figura 8. Perfil de la excreción urinaria de angiotensinógeno.
 Grupo SNE (O-O-O-O) y grupo SNE+CAPT (●-●-●-●)

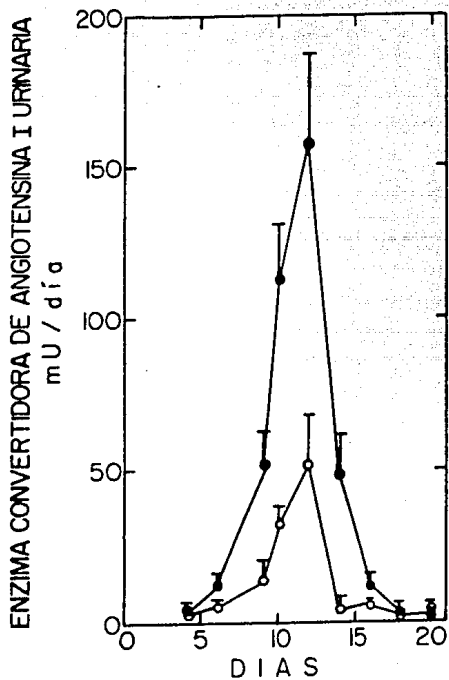


Figura 9. Perfil de la excreción urinaria de ECA. Grupo SNE (o-o-o-o) y grupo SNE+CAPT (●-●-●-●).

deduce que el captopril no afectó la concentración de proteínas totales en suero.

6. CONCENTRACION PLASMATICA DE RENINA (CPR).

En la tabla I se observa que la concentración de renina fue mucho mayor en las ratas tratadas con captopril, lo cual indica que el captopril potencia el aumento de la renina plasmática en las ratas nefróticas.

7. CONCENTRACION PLASMATICA DE ANGIOTENSINOGENO (CPA).

A diferencia de la CPR, los valores más altos de CPA los obtuvo el grupo de ratas nefróticas sin tratamiento (Tabla I). Lo cual indica que el captopril magnifica la disminución de angiotensinógeno en plasma.

8. ACTIVIDAD DE ECA EN SUERO.

En la tabla I se observa que la actividad de la ECA fue significativamente mayor en el grupo SNE+CAPT. Lo que indica que el captopril aumentó la concentración de esta enzima en suero y por tanto la actividad detectada.

RESUMEN DE RESULTADOS

El captopril no afectó la proteinuria de las ratas con SNE.

El captopril potenció el aumento de la excreción urinaria de renina y ECA en las ratas nefróticas tratadas con captopril.

La excreción urinaria de angiotensinógeno fue menor en las ratas nefróticas tratadas con captopril.

El perfil de excreción urinaria para cada una de las proteínas analizadas en este trabajo fue diferente.

GRUPOS	SNE	SNE+CAPT	SIGNIFICANCIA		
			t	Gl	p
PROTEINA EN SUERO g/dL	7.4±0.3 (9)	6.8±0.4 (16)	0.38	23	no sign.
ACTIVIDAD DE ECA EN SUERO mU/mL	60±4 (9)	139±12 (16)	4.78	32	p<0.001
CPR ng AI/mL/h	14±3.2 (8)	369±63 (11)	4.74	17	p<0.001
CPA ng AI/mL/h	1254±61 (9)	410±44 (14)	11.16	21	p<0.001

TABLA I. Resultados obtenidos de los análisis en suero y en plasma de ratas con SNE y SNE+CAPT realizados el día 26 cuando las ratas ya no tenían proteinuria. No sign.=no significativo, p=probabilidad. Entre parentesis está el número de determinaciones.

VII. Discusión

VII. DISCUSION

El SRA está profundamente alterado durante el SNE producido por ANP, los niveles de renina y ECA aumentan en tanto que los de angiotensinógeno disminuyen, efectos que se han observado tanto a nivel circulante como en orina (6, 59). El captopril magnifica evidentemente estos efectos (64) lo cual se ve reflejado en orina como lo muestran los resultados obtenidos en este trabajo. El captopril afecta de manera específica a cada una de las proteínas del SRA, no obstante que no altera la proteinuria. Los resultados obtenidos de este trabajo indican que el captopril no mejora el daño producido por el ANP a nivel de la BFG; por otra parte el hecho de ver reflejado en orina lo que sucede a nivel plasmático durante esta enfermedad representa una ventaja que podría tener aplicación clínica ya que en lugar de extraer una muestra de sangre al paciente los análisis se podrían realizar en orina, al menos durante este padecimiento.

En el SNE inducido por ANP la BFG pierde su selectividad (59), lo cual explica la proteinuria en los dos grupos de ratas, sin embargo, en este caso, el daño producido por ANP es reversible ya que la proteinuria tendió a desaparecer al final del estudio (51, 60, 61). Los perfiles de proteinuria fueron muy semejantes entre los dos grupos estudiados, lo cual indica que el captopril no redujo la proteinuria, estos resultados coinciden con los obtenidos por otros investigadores (65, 60), quienes encontraron que el captopril no afecta la proteinuria durante el SNE, sin embargo, Tratchman et al. (63) encontraron que el captopril sí reduce la proteinuria en ratas nefróticas; estas

discrepancias entre los trabajos seguramente se deben a variaciones entre los protocolos: la cepa de ratas (Sprague-Dawley vs Wistar), la dosis de captopril (10 mg/100 g/día vs 5 mg/100 g/día aprox.) y su forma de administración (en tabletas vs. disuelto en agua para beber). Por esta razón se considera que los resultados obtenidos en este trabajo se relacionan más con los de Pedraza-Chaverri et al. (64) donde sí existe una semejanza entre los protocolos, que con los de Tratchman et al. (71). El hecho de que el captopril no afectó los niveles de proteinuria indica que este compuesto no mejoró el daño producido por el ANP a nivel de la BFG. En este trabajo se observó mayor mortalidad en el grupo SNE+CAPT (33%) que en el SNE (10%), lo que sugiere que el captopril no mejoró y sí por el contrario empeoró el daño producido por el ANP a nivel de la BFG, lo que se ve apoyado por los hallazgos de Hall et al. (72) quienes observaron que el captopril no beneficia el daño producido por adriamicina en la BFG de ratas nefróticas, y sí produce alteraciones adicionales.

El captopril tiene un efecto específico sobre cada uno de los componentes del SRA: aumenta los niveles circulantes de renina y ECA y disminuye los de angiotensinógeno (62). Se sugiere que el captopril induce la secreción de renina ya sea por que afecta directamente a las células secretoras de renina o tal vez indirectamente por medio de prostaglandinas, kininas, niveles locales de AII, u otros intermediarios. La disminución de la concentración de angiotensinógeno en las ratas tratadas con captopril puede deberse a un aumento en su consumo,

secundario a los altos niveles circulantes de renina o bien a que el captopril inhiba directamente su secreción hepática (65). La concentración de renina y angiotensinógeno también se ve alterada indirectamente por la disminución de los niveles de AII, ya que desaparece la inhibición y la estimulación que esta hormona ejerce sobre la secreción de renina y angiotensinógeno, respectivamente. En este trabajo fue evidente el efecto del captopril sobre los componentes plasmáticos del SRA, pues cuando las ratas regresaban a la normalidad (es decir, cuando los efectos del ANP casi desaparecieron), se observaron altos niveles de renina y bajos niveles de angiotensinógeno en el plasma de las ratas tratadas con captopril (tabla I).

Como ya se mencionó, el SRA también se afecta marcadamente durante el SNE por ANP: los niveles circulantes de renina y ECA aumentan, en tanto que los de angiotensinógeno disminuyen (6, 59, 62, 64), probablemente como consecuencia de que se altera la síntesis, el catabolismo y la excreción urinaria de estas proteínas (59). El aumento de los niveles plasmáticos de renina puede ser secundaria a una disminución en el catabolismo de la molécula, a la caída del volumen plasmático y/o a la pérdida de esta proteína por orina, lo cual estimula la síntesis renal (y posiblemente la de otros tejidos). Los niveles plasmáticos de angiotensinógeno disminuyen probablemente por la pérdida de esta molécula por orina, por el aumento en su catabolismo o por un incremento en su consumo por parte de la renina (67-70). Sin embargo no es posible explicarlo por la disminución en su secreción ya que se ha demostrado que su

secreción hepática está aumentada (63).

En los párrafos anteriores se analizó el efecto que el captopril y el SNE tienen por separado sobre el SRA. Al utilizar estas dos variables juntas se observó que el captopril potencia el aumento de los niveles de renina y la disminución de los de angiotensinógeno durante el SNE lo cual sugiere que son diferentes los mecanismos por los cuales el captopril y el SNE afectan al SRA. Los resultados obtenidos seguramente son un reflejo de lo que sucede a nivel plasmático; no obstante que el captopril no afecta la concentración de proteínas séricas durante el SNE, los niveles plasmáticos de renina que ya son altos durante el SNE, se ven aún más aumentados por el captopril y por tanto aumenta la excreción de renina por orina (fig.7), la concentración plasmática de angiotensinógeno disminuye aún más en el grupo de ratas nefróticas tratadas con captopril provocando una disminución de la excreción urinaria de esta molécula (fig. 8). Lo que sugiere que la cantidad excretada de cada una de estas proteínas depende de su concentración en plasma, idea apoyada por el hecho de que la albúmina es la proteína más concentrada en plasma y la que más se excreta por orina de ratas nefróticas (79). Debido a que el captopril no altera los perfiles de proteinuria podemos suponer que el captopril afecta el SRA a nivel circulante y no a nivel de la BFG, ya que además afecta diferencialmente a cada una de estas moléculas.

El aumento de la actividad sérica de la ECA durante el SNE puede deberse a varios factores: hiperproducción de la enzima por parte de varios tejidos, disminución de su catabolismo

hepático (ya que el hígado es dañado por el ANP), aumento en las hormonas tiroideas durante el SNE (las cuales posiblemente juegan un papel muy importante en el aumento de la actividad) (50), y/o por el daño de la membrana plasmática de las células endoteliales de muchos órganos lo que provoca que la ECA se vierta al torrente sanguíneo contribuyendo a la elevación de su actividad en suero. Los resultados obtenidos por Arévalo (51) indican que los cambios que ocurren en diferentes órganos durante el SNE contribuyen a elevar la actividad de la ECA en suero lo cual está directamente relacionado con la actividad detectada en orina.

Otro estímulo para el aumento de la actividad de la ECA en suero lo constituyen los inhibidores de esta enzima. Se ha observado que el captopril estimula la biosíntesis de novo de la enzima en diferentes órganos (23). En este trabajo se observó que el aumento de la actividad urinaria de la ECA durante el SNE se potencia por el captopril, como podemos apreciar en la figura 9, lo cual suponemos es un reflejo de lo que sucede en suero. No obstante que no se han realizado estudios acerca de los efectos del captopril sobre la actividad sérica de la ECA durante el SNE, suponemos que el aumento en la actividad durante el SNE se verá potenciada por el captopril, es decir, la actividad sérica de la ECA estará relacionada directamente con la detectada en orina lo cual se comprobará en estudios posteriores.

En resumen, el captopril magnifica el aumento de renina y ECA y la disminución de angiotensinógeno a nivel circulante durante el SNE lo cual se ve reflejado en orina.

Por otra parte, los perfiles de renina , angiotensinógeno

y ECA no coinciden con el perfil de la proteinuria lo que sugiere que cada proteína excretada tiene un perfil específico determinado por las características de cada molécula y por la concentración de cada proteína en sangre. Lo anterior indica que la composición cuantitativa y cualitativa de las proteínas en orina varían a lo largo del experimento.

ESTA TESIS NO DEBE
SALIR DE LA BIBLIOTECA

VIII. Conclusiones

VIII. CONCLUSIONES

El captopril no modificó el perfil de proteinuria, lo cual indica que este fármaco no mejoró el daño producido por el ANP a nivel de la BFG.

Sin embargo, el captopril sí alteró profundamente la excreción urinaria de renina, angiotensinógeno y ECA probablemente como consecuencia de las alteraciones que provoca sobre los niveles circulantes de estas proteínas.

IX. Bibliografía

IX. BIBLIOGRAFIA

1. Soffer RL. Experimental renal hypertension: The discovery of the renin-angiotensin system. En: Biochemical regulation of blood pressure. Editado por Richard L. Soffer. John Wiley & Sons 1981;4-31.
2. Goldblatt H, Lynch J, Harzal RF, Summerville WW. Studies on experimental hypertension. I The production of persistent elevation of systolic blood pressure by means of renal ischemia. J Exp Med 1934;59:347-379.
3. Goldblatt H. The renal origin of hypertension. Physiol Rev 1947;27:120-165.
4. Goldblatt H. The renal origin of hypertension. Charles C. Thomas, Springfield, ILL, 1948.
5. Pedraza-Chaverri J. Influencia de la toxina pertussis sobre la función renal. I Efecto sobre la secreción de renina. Tesis de Doctorado. Facultad de Química. UNAM 1985.
6. Cruz C. Efecto del captopril (SQ 14,225) sobre el desarrollo del síndrome nefrótico experimental en ratas. Tesis de licenciatura. Facultad de Ciencias. UNAM, 1988.
7. Ballerman BJ, Levenson DJ, Brenner BM. Renin, angiotensin, kinins, prostaglandins and leukotrienes. En: The kidney. Editado por W. B. Sanders 1986;281-340.
8. Dzau V, Pratt R. Renin-angiotensin system: Biology, physiology and pharmacology. En The heart and cardiovascular system. Raven Press; Nueva York 1986;631- 1662.
9. Ganten D, Herman K, Unger T, Lang RE. The tissue renin-angiotensin-system: Focus on brain angiotensin, adrenal gland and arterial wall. Clin Exp Hypertens A 1983;5(748):1099-1118.
10. Rosenthal JH, Pfeifle B, Michailov ML, Pschorr J, Jacob ICM, Dahlheim. Investigations of components of renin-angiotensin system in rat vascular tissue. Hypertension 1984;6:383-390.
11. Dzau VJ. Vascular renin-angiotensin: a possible autocrine or paracrine system in control of vascular function. J Cardiovasc Pharmacol 1984;6:S377-S382.
12. Dzau VJ. Vascular wall renin-angiotensin pathway in control of the circulation. A hypothesis. Am J Med 1984;77(4A):31-36.
13. Dzau VJ. Significance of vascular renin-angiotensin pathway. Hypertension 1986;8:553-559.

14. Inagami T, Nakamura M, Pandey KN, Naruse M, Misono K, Okamura T, Kawamuras W. Intracellular action of renin, angiotensin production and release. *J Hypertens* 1986;4(suppl 4): S11-S16.
15. Campbell DJ. Circulating and tissue angiotensin systems. *J Clin Invest* 1987;79:1-6.
16. Dzau VJ. Implications of local angiotensin production in cardiovascular physiology and pharmacology. *Am J Cardiol* 1987;59: 59A- 45A.
17. Mesterovic N, Catanzaro DF, Morris BJ. Detection of renin mRNA in mouse kidney and submandibular gland by hybridization with renin cDNA. *Endocrinology* 1983;113:1179-1181.
18. Keeton TK. The pharmacological alteration of renin release. *Pharmacol Rev* 1980;32:81-227.
19. Skeggs LT, Dorer FE, Levine M, Lentz KE, JR Kann. The Biochemistry of the renin-angiotensin system. Ed J A Johnson, RR Anderson. pp 1-27, 1980.
20. Tewksbury DA. Angiotensinogen. En Biochemical regulation of blood pressure. Editado por Richard L. Soffer. John Wiley and Sons. 95-120, 1981.
21. Campbell DJ, Bouhnik J, Mónard J, Corvol P. Identity of angitensinogen precursors of rat brain and liver. *Nature* 1984;308: 206-208.
22. Takada Y, Hiwada K, Kokubu T. Isolation and characterization of angiotensin converting enzyme from human kidney. *J Biochem* 1981;90:1309-1319.
23. Forslund T, Kuovomen I, Fyrquist F. Tissue distribution of angiotensin converting enzyme in the rat: effect of captopril treatment. *Acta Pharmacol Toxicol* 1984;54:124-128.
24. Schulz W, Hagler H, Buja L, Erdős E. Ultrastructural localization of angiotensin-I converting enzyme (3.4.15.1.) and neutral metalloproteinase (E.C. 3.4.24.11.) in the proximal tubule of the human kidney. *Lab Invest* 1988;59:789-797.
25. Van Sande ME, Sharpó SL, Neels HM, Van Camp KO. Distribution of angiotensin converting enzyme in human tissues. *Clin Chem Acta* 1985;147:255-260.
26. Erdos EG. The angiotensin converting enzyme. *Fed Proc* 1977;36(5):1760-1765.
27. Erdos EG. The angiotensin-I converting enzyme. *Lab Invest* 1987;56:345-348.

28. Ibarra-Rubio ME, Peña JC, Pedraza-Chaverri J. Kinetic and inhibitory characteristic of serum angiotensin-converting enzyme from nine mammalian species. *Comp Biochem Physiol B* 1988;92:399-403.
29. Wilson SK, Lynch DR, Snyder SH. Angiotensin-converting enzyme labeled with ³H captopril. Tissue localization and changes in different models of hypertension in the rat. *J Clin Invest* 1987;80:341-351.
30. Fyhrquist F, Forslund T, Tikkanen I, Grohagen-Riska C. The induction of angiotensin converting enzyme in rat lung with captopril (SQ 14,225). *Eur J Pharmacol* 1985;67:473-475.
31. Fyhrquist F, Gronhagen-Riska C, Forslund T, Hortling L. Physiological and pharmacological aspects of angiotensin converting enzyme. *J Urol Nephrol* 1984;79:39-43.
32. Sakharov EA, Dukhanina EA, Danilov SM. Isolation and properties of angiotensin converting enzyme from human lungs. *Biochemistry* 1986;51:810-815.
33. Erdos E.G., Conversion of angiotensin I to angiotensin II. *Am J Med* 1976; 60:749-759.
34. de Leeuw PW, Birkehönger WH. The renin-angiotensin system: physiological actions on the kidney. *En Handbook of Hypertension vol 8: Pathophysiology of Hipertension-Regulatory Mechanism*. Ed por A Zanchetti y R. C. Tarazi 1986; 8:455-465.
35. Cushman DW, Cheung HS, Sabo EF, Odetti MA. Design of potent competitive inhibitors of angiotensin converting enzyme. Carboxyalkanoyl and mercaptoalkanoylaminoacidic. *Biochemistry* 1977;16:5484- 5491.
36. Davis JO, Freeman RH. Historical perspectives on the renin-angiotensin-aldosterone system and angiotensin blokade. *Am J Card* 1982;49:1385-1389.
37. Johnson JA, Davis JO. Effects of an angiotensin II analog on blood pressure and adrenal steroid secretion in dogs with thoracic caval constriction (abstr). *Physiologist* 184,1972.
38. Ferreira SH. A bradykinin-potential factor (BPF) present in the venom of Bothrops jararaca. *Br J Pharmacol* 1965;24:163-169.
39. Patchett A, Cordes E. The design and properties of n-carboxylalkylpeptide inhibitors of angiotensin converting enzyme. *Adv Enzymol* 1985;57:1-84.
40. Fyhrquist F, Grohagen C, Hortling L, Forslund T, Tikkanen I, Kokars M. The induction of angiotensin converting enzyme by its inhibitors. *Clin Exp Hypertens A* 1983;5(7&8):1319-1330.

41. Engel SL, Shaeffer TR, Waugh M, Rubin B. Effects of the nonapeptide SQ 20881 on blood pressure of rats with experimental hypertension. Proc Soc Exp Biol Med 1973;143:483-487.
42. Geppetti P, Spillantini M, Frilli S, Pietrini U, Fanciullacci M, Scuteri F. Acute oral captopril inhibits angiotensin converting enzyme activity in human cerebrospinal fluid. Hypertension 1987;5:151-154.
43. Wyvratt M, Patchett A. Recent developments in the design of angiotensin-converting enzyme inhibitors. Med Res Rev 1985; 5(4):483-531.
44. Ganong WF. Fisiología Médica. Octava Edición. El Manual Moderno. pp 660. México 1982.
45. Guyton AC. Fisiología Humana. Quinta Edición. Interamericana. p.p.490. México 1983.
46. Morris J, Karnovsky M. The ultrastructure of glomerular filtration. Ann Rev Med 1979;30:213-224.
47. Sckoreki KL, Nadler SP, Badr KF, Brenner BM. Renal and systemic manifestations of glomerular disease. En: Brenner BM. Rector FC eds: The Kidney; Philadelphia: WB Saunders Co. 1986:891-928.
48. Barnes L, Moll G, Janeway Ch. Nephrotic Syndrome. I. Natural history of the disease. Pediatrics 1950;5:486-503.
49. Brown E. The nephrotic syndrome. Postgraduate Med J 1985;61:1057-1062.
50. Arneil G. The nephrotic syndrome. Pediatric Clin N Am 1971. 18(2):547-559.
51. Arévalo VA. Enzima convertidora de angiotensina I (E.C. 3.4.15.1.) en ratas con síndrome nefrótico experimental. Tesis de Licenciatura. Facultad de Ciencias. UNAM,1990.
52. Beathard GA. Proteinuria and the nephrotic syndrome. Tex Med 1973;69:51-58.
53. Heyman W, Lund HZ. Nephrotic syndrome in rats. Pediatr 1951; 7:691-706.
54. Frenk S, Antowics I, Craig JM, Metcoff J. Experimental nephrotic syndrome. Renal lesion and body electrolyte composition. Proc Soc Exp Biol Med 1955;89:424-427.
55. Fiegelson EB, Drake JW, Recant L. Experimental aminonucleoside nephrosis. J Lab Clin 1957;50:437-446.

56. Bertani T, Poggi A, Pozzoni R, Delaini F, Sacchi G, Thoua Y, Mecca G, Remuzzi G, Donati MB. Adriamycin-induced nephrotic syndrome in rats: sequence of pathologic events. *Lab Invest* 1982;46:16-23.
57. Morisaki N, Matsuoka N, Saito Y, Kumagai A. Lipid metabolism in nephrotic rats induced by daunomycin injection. *Metabolism* 1984;33:405-410.
58. Hoedemaker J. Experimental glomerulonephritis. *Nephrology Baillière Tindall London Proceedings of the Xth International Congress of Nephrology*. Ed por Alex M Davidson 1988;1:424-426.
59. Chávez-Ponce MT. Caracterización del sistema renina-angiotensina-aldosterona en el síndrome nefrótico experimental. Tesis de Licenciatura. Facultad de Química. UNAM, 1988.
60. Renke HG, Olson JL, Venkatachalam MA. Glomerular filtration of macromolecules: normal mechanism and the pathogenesis of proteinuria. *Contr Nephrol* 1981;24:30-41.
61. Deen W, Myers B, Brenner B. The glomerular barrier to macromolecules: theoretical and experimental considerations. Editorial Review *Kidney Int* 1980;1:1-29.
62. Pedraza-Chaverri J, Cruz C, Ibarra-Rubio ME, Chávez MT, Calleja C, Tapia E, Uribe MC, Romero L, Peña JC. Pathophysiology of experimental nephrotic syndrome induced by puromycin aminonucleoside in rats. I. The role of proteinuria, hypoproteinemia and renin-angiotensin-aldosteron system on sodium retention. *Rev Invest Clin* 1990; 42:29-38.
63. Pedraza-Chaverri J, Cruz C, Chávez MT, López A, Ibarra-Rubio ME, Tapia E, Peña JC. Pathophysiology of experimental nephrotic syndrome induced by puromycin aminonucleoside in rats. II *In vitro* release of renin, angiotensinogen and aldosterone. *Rev Invest Clin* 1990;42(2). En prensa.
64. Pedraza-Chaverri J, Cruz C, Chávez MT, Ibarra-Rubio ME, Tapia E, Peña JC. Pathophysiology of experimental nephrotic syndrome induced by puromycin aminonucleoside in rats. III Effect of captopril, an angiotensin converting enzyme inhibitor on proteinuria and sodium retention. *Rev Inv Clin* 1990;42(3). En prensa.
65. Radziwill R, Stuzmann M, Hilgenferdt U, Hackenthal EB. Converting enzyme inhibitor induced changes of plasma angiotensinogen concentration in the rat. *Eur J Pharmacol* 1986; 122:59-64.
66. Pedraza-Chaverri J, Cruz C, Ibarra-Rubio ME, Hernández C, Tapia E, Peña JC. Urinary excretion of renin and angiotensinogen in nephrotic rats. *Nephron* 1990. En prensa.

67. Zatzr, Dunn BR, Meyer TW, Anderson S, Rennke HG, Brenner BM. Prevention of diabetic glomerulopathy by pharmacological amelioration of glomerular capillary hypertension. *J Clin Invest* 1986;77:1925-1930.
68. Johnston CI, Derevi L, Jackson B. Progression of renal disease: effects of different classes of antihypertensive therapy (abstract). *Am Soc Hypertens* 1986; 1:14A.
69. Martínez-Vea A, García Ruiz C, Carrera M, Oliver JA, Richart C. Effect of captopril in nephrotic-range proteinuria due to renovascular hypertension. *Nephron* 1987;45: 162-163.
70. Taguma Y, Kitamoto Y, Futaki G. Effect of captopril on heavy proteinuria in azotemic diabetes. *New Engl J Med* 1985;313: 1617-1620.
71. Tratchman H, Zavidowitz B, Bennet B, Goldsmith DI. The effect of captopril on urinary protein excretion in puromycin aminonucleoside nephrosis in rats. *Pediatr Res* 1985;19:828-834.
72. Hall RL, Wilke WL, Fettman MJ. The progression of adriamycin induced nephrotic syndrome in rats and the effect of captopril. *Toxicol Appl Pharmacol* 1986; 82: 164-174.
73. Radin MJ, Wilke WL, Fettman MJ. Effect of captopril in chronic puromycin aminonucleoside nephrosis in rats. *Res Commun Chem Pathol Pharmacol* 1986; 54:279-282.
74. Lowry OA, Rosenbrough NJ, Farr AL, Ranal RJ. Protein measurement with the Folin phenol reagent. *J Biol Chem* 1951;193: 267-275.
75. Pedraza-Chaverri J, Sánchez MC, Ibarra-Rubio ME. Niveles de angiotensina II en ratas sometidas a estímulos del sistema renina- angiotensina. *Rev Invest Clin* 1988;40:253-258.
76. Pedraza-Chaverri J, Alatorre MC, Ibarra-Rubio ME, Peña JC, García-Sáinz JA. Effect of pertussis toxin on the adrenergic regulation of plasma renin activity. *Life Sci* 1984;35:1683-1689.
77. Pedraza-Chaverri J, Ibarra-Rubio ME, Alatorre-González MC, Peña JC, García Sáinz JA. Pertussis toxin potentiates anesthesia induced renin secretion. *Eur J Pharmacol* 1985;112:115-117.
78. Pedraza-Chaverri J, Alatorre- González MC, Peña JC, García Sáinz JA. Pertussis toxin enhances the beta-adrenergic and blocks the alpha-adrenergic regulation of renin secretion in renal -cortical slices. *Life sci* 1986;30:1005-1011.

79. Pedraza-Chaverri J, Cruz C, Sandoval A, Tapia E, Peña JC. Effect of captopril on urinary excretion of renin and angiotensinogen in aminucleoside-nephrosis 1990. Enviada a Nephron.

80. Vander AJ. Fisiología Renal. Tercera edición. MCGRAW-HILL. pp 238. México 1986.