

98
201



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA
DE MEXICO

FACULTAD DE CIENCIAS

SECRECION DE RENINA IN VITRO EN EL
SINDROME NEFROTICO EXPERIMENTAL

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE

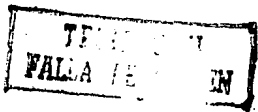
B I O L O G O

P R E S E N T A

CESAR RICARDO HERNANDEZ RIVERA

MEXICO, D. F.

1992





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.

INDICE

RESUMEN.....	1
I. INTRODUCCION.....	1
1.1. SISTEMA RENINA-ANGIOTENSINA.....	1
1.2. SINDROME NEFROTICO.....	3
1.3. BIOSINTESIS DE RENINA.....	5
1.4. MECANISMOS CELULARES DE LA SECRECION DE RENINA.....	8
1.5. CONTROL FISIOLOGICO DE LA SECRECION DE RENINA.....	10
1.6. HORMONAS Y AGENTES FARMACOLOGICOS QUE MODIFICAN LA SECRECION DE RENINA.....	11
1.6.1. TRIFLUOPERAZINA.....	11
1.6.2. FORSKOLINA.....	12
1.6.3. B-BrAMPc.....	12
1.6.4. ISOPROTERENOL.....	12
1.6.5. B-BrGMPc.....	12
1.6.6. ANGIOTENSINA II.....	13
1.6.7. ALTAS CONCENTRACIONES DE POTASIO.....	13
1.6.8. BAJAS CONCENTRACIONES DE POTASIO.....	13
II. HIPOTESIS.....	15
III. OBJETIVOS.....	16
IV. MATERIAL Y METODOS.....	17
4.1. REACTIVOS.....	17
4.2. DISEÑO EXPERIMENTAL.....	17
4.3. INCUBACION DE LAS REBANADAS DE CORTEZA RENAL.....	18
4.4. METODOS ANALITICOS.....	20
4.4.1. DETERMINACION DE PROTEINAS.....	20
4.4.2. DETERMINACION DE RENINA Y PRORENINA.....	21
4.5. ANALISIS ESTADISTICOS.....	22

V.	RESULTADOS.....	23
	5.1. CARACTERIZACION DEL SINDROME NEFROTICO.....	23
	5.2. RENINA Y PRORENINA EN PLASMA.....	24
	5.3. RENINA Y PRORENINA INTRARRENAL.....	25
	5.4. RENINA Y PRORENINA EN ORINA.....	25
	5.5. VALORES BASALES DE LA SECRECION DE RENINA <u>IN VITRO</u>	26
	5.6. SECRECION DE RENINA ACTIVA, TOTAL E INACTIVA <u>IN VITRO</u>	27
	5.7. SECRECION DE RENINA <u>IN VITRO</u> BAJO DIFERENTES AGENTES FARMACOLOGICOS.....	27
	5.8. CURVA DE DOSIS-RESPUESTA CON ISOPROTERENOL.....	29
VI.	DISCUSION.....	30
VII.	CONCLUSIONES.....	35
VIII.	REFERENCIAS.....	36

RESUMEN.

Las ratas con síndrome nefrótico (SN), inducido con aminonucleósido de puromicina (ANP), tienen altos niveles circulantes y elevada excreción urinaria de renina. Sin embargo, no se conoce el mecanismo por medio del cual aumenta la renina activa en el plasma de estas ratas.

Con el propósito de obtener información que nos permita conocer este mecanismo, en el presente trabajo se estudiaron: los niveles circulantes, la excreción urinaria, el contenido renal y la secreción de renina activa e inactiva (prorenina) en rebanadas de corteza renal en ratas con SN inducido con ANP.

La proteinuria y la hipoproteïnemia, presentes en las ratas inyectadas con ANP, constituyen una evidencia de la presencia del SN al momento del sacrificio. En el SN se observó un aumento de renina activa e inactiva en el plasma, acompañado de una disminución en el porcentaje de renina inactiva, lo cual nos puede indicar que en el plasma de ratas nefróticas la conversión de renina inactiva a renina activa está estimulada. Otra posible explicación a esta disminución puede ser el aumento en la excreción urinaria de renina inactiva. De hecho, la excreción urinaria de renina activa, inactiva, total (activa + inactiva) y porcentaje de renina inactiva en el SN, fue más alta que en las ratas controles.

La concentración renal de renina activa, total, inactiva y el porcentaje de renina inactiva no se alteraron en las ratas nefróticas. Estos datos no apoyan un aumento en la síntesis renal

de renina en el SN. Por lo tanto los cambios que se presentan en la secreción de renina durante el SN no son dependientes de su síntesis.

Cuando en el medio de incubación se agregaron diferentes hormonas y agentes farmacológicos, para estudiar su efecto sobre la secreción de renina, los porcentajes tanto de estimulación (con: trifloperazina, forskolina, 8-BrAMPc e isoproterenol) como de inhibición (con: 8-BrGMPc, angiotensina II, potasio 30 mM y potasio 0 mM) no mostraron ninguna alteración al comparar el grupo control contra el nefrótico, lo cual nos sugiere que no están alterados los mecanismos de secreción de renina in vitro en el SN.

Inexplicablemente, la secreción basal de renina en las rebanadas de corteza renal de ratas nefróticas siempre fue menor que la secreción de renina en las rebanadas de ratas controles. Se pueden proponer varias explicaciones a este fenómeno, por ejemplo:

a) La ausencia in vitro de estímulos hemodinámicos como la disminución en la presión de perfusión que pudieran ser responsables del aumento de la secreción de renina in vivo en el SN.

b) Agentes humorales u hormonales que están presentes en el animal completo y no in vitro y que jueguen un papel decisivo en la secreción de renina en el SN.

c) Probablemente la disminución de la secreción de renina in vitro, en tejido de corteza renal de ratas con SN, se deba a un

aumento de la concentración de angiotensina II en el medio de incubación.

Debido a que a pesar de que no está estimulada la síntesis renal de renina en el SN, aun cuando existe un aumento en la concentración plasmática de renina, se puede suponer un posible origen extrarenal de la renina en el día 6 del SN experimental.

I. INTRODUCCION

1.1. SISTEMA RENINA-ANGIOTENSINA.

El sistema renina-angiotensina-aldosterona juega un papel muy importante en la homeostasis de la presión sanguínea y en la regulación de los líquidos corporales (1,2). Las moléculas que componen este sistema son: a) las enzimas: renina, convertidora de angiotensina I (ECA) y angiotensinasas; b) los péptidos: angiotensina I (Ang I), angiotensina II (Ang II) y angiotensina III (Ang III); c) la globulina alfa 2: angiotensinógeno y d) la hormona esteroide aldosterona (fig A).

Aun cuando la renina se produce principalmente en el riñón, se ha encontrado que otros tejidos también la sintetizan. Su sustrato es el angiotensinógeno que es hidrolizado por la renina para formar el decapeptido Ang I el cual no tiene actividad biológica. La ECA que se sintetiza principalmente en el pulmón, remueve dos aminoácidos (Histidina-Leucina) del extremo carboxilo de la Ang I, para formar el octapeptido Ang II, que sí tiene importantes acciones biológicas tales como: es un potente vasoconstrictor, incrementa la presión sanguínea mediante el sistema nervioso simpático y parasimpático, estimula la sed, estimula la secreción de aldosterona, estimula la secreción hepática de angiotensinógeno e inhibe la secreción renal de renina (3). La Ang II se transforma mediante la acción de la angiotensinasa A, que hidroliza el extremo amino aspártico de la Ang II, para formar el heptapeptido Ang III que también estimula la secreción de aldosterona pero tiene un efecto presor menor al de la Ang II (1,4).

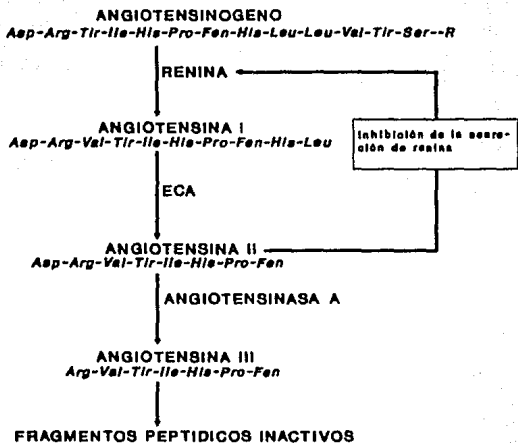


FIGURA A. Principales componentes del sistema renina-angiotensina-aldosterona
 R: resto de la molécula

La actividad del sistema está regulada principalmente por la velocidad de liberación de la renina, que se sintetiza, se almacena y es liberada por las células yuxtaglomerulares (YG) (3). Estas células se derivan del músculo liso arteriolar como se hace evidente por la presencia de miofilamentos, pero también tienen características morfológicas de las células secretoras como un aparato de Golgi prominente, retículo endoplásmico bien desarrollado y la presencia de gránulos unidos a la membrana, los cuales contienen a la renina (5).

1.2. SINDROME NEFROTICO.

El síndrome nefrótico (SN), es una enfermedad cuyos signos son: proteinuria, hipoproteinemia, albuminuria, ascitis, edema, lipiduria, retención de sodio, disminución de la presión coloidosmótica, hipercolesterolemia e hiperlipoproteinemia (6,7). Es un síndrome frecuente en niños, pero en la mayoría de ellos su origen es desconocido (8). En adultos se da como consecuencia de glomerulonefritis, amiloidosis, lupus eritematoso o diabetes mellitus (9).

Una de las proteínas que más se pierden por orina en el SN es la albúmina (albuminuria), esta pérdida no alcanza a compensarse a pesar de que aumenta su síntesis y en consecuencia se produce hipalbuminemia. Muchas otras proteínas también se pierden por la orina, lo que junto con la albuminuria provoca hipoproteinemia que trae como consecuencia una disminución de la presión coloidosmótica (10). De las proteínas del sistema renina-angiotensina se excretan por orina: angiotensinógeno y renina (11); mientras que en plasma de estas ratas, el angiotensinógeno disminuye y la re-

nina aumenta (8).

Para el estudio del SN, se han utilizado los siguientes modelos experimentales:

- a) Inyección de suero anti-riñón (nefritis por suero nefrotóxico o nefritis de Heyman) (7,12).
- b) Inyección de aminonucleósido de puromicina (ANP) (8,13,14).
- c) Inyección de adriamicina (15).
- d) Inyección de daunomicina (16).

El SN experimental inducido por ANP es uno de los modelos más estudiados, debido a que es muy similar al SN con lesiones mínimas que se presenta en los humanos. Además este modelo experimental ofrece la ventaja de estudiar en condiciones controladas, la evolución de esta enfermedad (8,11).

El ANP, dependiendo de la dosis, puede producir SN crónico o bien SN agudo. El SN crónico se induce por inyecciones intravenosas a dosis bajas (5 mg/100 g de peso), se asocia con proteinuria crónica y el daño es irreversible (17). El SN agudo se induce por una o varias inyecciones subcutáneas que van desde 5 a 15 mg/100 g de peso, desencadenándose proteinuria y SN entre los días 7 al 14 después de su aplicación. Aproximadamente a las 6 semanas, la proteinuria desaparece, por lo tanto este modelo es reversible. El SN agudo inducido por ANP ya ha sido caracterizado por Pedraza y cols (8,11,18), y se ha encontrado que a los 6 días después de la inyección se presenta proteinuria, hipoproteinemia, hiperrreninemia, y las demás características del síndrome.

El o los mecanismos por los cuales el ANP produce daño en el riñón no han quedado totalmente claros; pero se piensa que los

radicales libres que se producen durante el metabolismo del ANP son los que causan daño a nivel celular, aunque también se ha observado que el ANP reduce la barrera electrostática de polianiones y produce una degeneración de los procesos podocíticos de la barrera de filtración glomerular (4).

1.3. BIOSINTESIS DE RENINA.

La renina en el plasma existe en dos formas diferentes, la forma enzimáticamente activa puede generar Ang I a partir de angiotensinógeno; se le conoce simplemente como renina, o bien como renina activa. La segunda forma de la renina es enzimáticamente inactiva y está estructuralmente relacionada con el precursor biosintético de la renina; se conoce como renina inactiva o prorenina. Experimentalmente la renina inactiva puede activarse por acidificación o proteólisis pero aún no está claro como ocurre esta activación in vivo.

La preprorenina es el primer producto de traducción del mensajero de renina. En la renina renal de rata, la secuencia "pre" consta de 20 aminoácidos que insertan la proteína dentro del lumen del retículo endoplásmico rugoso, y se lleva a cabo un rápido rompimiento para convertirse en prorenina (la extensión del segmento "pro" es de 46 aminoácidos). En este estado inactivo, la prorenina recorre el retículo endoplásmico rugoso y el aparato de Golgi, a partir de aquí la prorenina puede tomar 3 destinos diferentes que incluyen dos vías secretoras (regulada y constitutiva), o bien degradarse en los lisosomas (19), (Figura B). La forma madura de la enzima (renina activa) tiene un peso

molecular de 36,917 Daltones y está formada por por 338 residuos de aminoácidos.

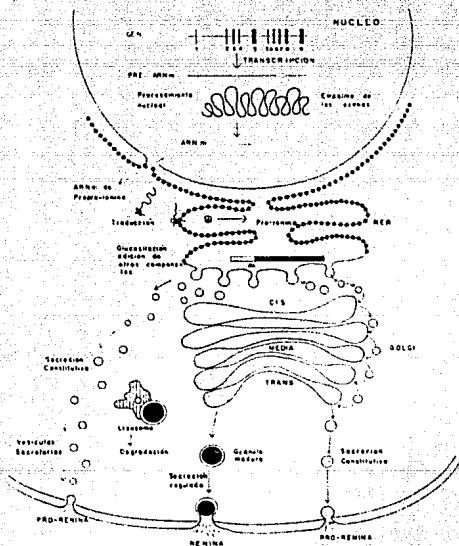


FIGURA B. Vías de secreción de la renina renal.

Se ha demostrado que la prorenina se une a los receptores de la manosa 6-fosfato (20), lo cual facilita su entrada a los lisosomas. Se desconoce el porcentaje de prorenina que entra en los lisosomas, pero parece ser relativamente pequeño (aproximadamente el 5 % en las células L de mamífero) (20). Se desconoce cual es el papel que juegan los lisosomas en la cantidad de renina que secretan las células que la producen.

La renina activa es el producto primario de secreción de la vía regulada (21), en esta vía la prorenina se almacena en los gránulos de secreción, que también sirven como sitio de conversión de prorenina a renina. Por métodos inmunocitoquímicos, Taugner y cols (22) demostraron la existencia de prorenina en gránulos inmaduros pero no en gránulos maduros de células YG de humano.

La prorenina es el producto de secreción de la vía constitutiva (21), en esta vía se libera la prohormona a la superficie celular en proporciones constantes (23). En los humanos se han identificado tejidos que secretan prorenina: un tumor ovárico (24) y la decidua de mujer embarazada (25), y se ha demostrado que, en contraste con las células YG donde la renina se concentra en gránulos densos, la renina se localiza en vesículas amorfas claras unidas a la membrana en estos tejidos (24,25). Estos estudios sugieren que la prorenina es la forma primaria de la renina en las vesículas unidas a la membrana y que además se secreta constitutivamente en estos tejidos. Si la prorenina se secreta por esta vía se puede activar extracelularmente (26), esta conversión de prorenina en el plasma puede ser una vía secundaria para la producción de renina activa,

sin embargo no todos los autores han encontrado que la prorenina se activa sistémicamente

1.4. MECANISMOS CELULARES DE LA SECRECIÓN DE RENINA

La síntesis, el almacenamiento y la secreción de renina se llevan a cabo en las células YG del riñón (8,10). La observación de que la secreción de renina a partir de las células YG está principalmente dirigida por señales externas, implica la existencia de señales de transducción en estas células. Hay evidencias que sugieren la presencia de receptores en la superficie de las células YG como receptores ligados a la guanilato-ciclasa (27), a la adenilato-ciclasa (28) y a la fosfolipasa C (29). Las células YG presentan 2 grupos de canales de potasio activados por voltaje (34), uno de ellos es activado por hiperpolarización y el segundo es activado por potenciales de membrana de -10 mV o potenciales más positivos.

A la fecha, se han desarrollado dos teorías acerca de la forma en que se secreta la renina a partir de las células YG. Se ha propuesto, por una parte, que la renina contenida en los gránulos se puede solubilizar intracelularmente, dando como resultado el paso de moléculas de renina a través de la membrana plasmática (31). Por otra parte, se ha propuesto que es un mecanismo de exocitosis el que regula la secreción de renina, como apoyo de esta hipótesis se tienen evidencias morfológicas como la fusión de los gránulos de renina con la membrana plasmática (5,32), sin embargo los mecanismos por los cuales se inicia la exocitosis en las células YG, aún están en discusión.

Los segundos mensajeros involucrados en la secreción de

renina son el calcio, el AMPc y el GMPc (2). Un incremento en el calcio intracelular se considera comúnmente como una señal que inicia, mantiene o facilita la exocitosis en las células secretoras; sin embargo, en las células YG no ocurre de esta manera ya que un incremento en calcio bloquea la secreción de renina y viceversa (33-35); a este fenómeno se la ha llamado comúnmente "la paradoja del calcio" y ha sido observado solamente en otras células secretoras: las células que secretan la hormona paratiroidea (36). El papel del calcio en la secreción de renina se ha deducido a partir de las siguientes evidencias, la secreción de renina: a) se inhibe por hormonas que movilizan calcio, b) está inversamente relacionada con la concentración de calcio extracelular y c) se inhibe por maniobras que permiten la entrada de calcio o que bloquean la salida de calcio (33,36).

El papel del GMPc en el control de la secreción de renina no está bien claro. El GMPc se sintetiza a partir de la guanilato-ciclase, la única hormona que activa la guanilato-ciclase de membrana es el péptido natriurético auricular (PNA). Gran número de estudios han reportado que la secreción de renina se inhibe cuando se utiliza el PNA o con análogos del GMPc permeables a la membrana, como el 8-bromo guanosin monofosfato cíclico (8-BrGMPc), o el dibutiril-GMPc (27), otros trabajos reportan que el PNA no modifica la secreción de renina y, finalmente, hay autores que han observado un efecto estimulatorio del PNA sobre la secreción de renina (37,38).

Por otra parte, no existen dudas sobre el papel que juega el AMPc en la secreción de renina, un incremento del AMPc

intracelular por efecto de la estimulación de la adenilato-ciclasa o por análogos del AMPc liposolubles, como el 8-bromo adenosín monofosfato cíclico (8-BrAMPc), estimulan la secreción de renina (36). Los mecanismos de acción del AMPc sobre la secreción de renina no están totalmente claros y es posible que el estímulo no se deba a un efecto directo del AMPc sino que se dé a través de una disminución de los niveles intracelulares de calcio (39,40).

1.5. CONTROL FISIOLÓGICO DE LA SECRECIÓN DE RENINA

Los mecanismos fisiológicos que regulan la liberación de renina del riñón son:

a) Un barorreceptor intrarrenal: se ha sugerido que las variaciones en la presión de perfusión renal, modulan la secreción de renina por medio de un barorreceptor intrarrenal. La secreción de renina es inversamente proporcional a la presión sanguínea (36,39,40).

b) La mácula densa: la secreción de renina es inversamente proporcional a la cantidad de sodio y/o cloro que pasa por el segmento de mácula densa del túbulo distal (36,39).

c) El sistema nervioso simpático: la estimulación del nervio simpático activa los receptores β -adrenérgicos e incrementa el AMPc con efectos sobre la secreción de renina, probablemente por la modulación intracelular de calcio. La secreción de renina es directamente proporcional a la actividad del sistema nervioso simpático (36,40).

d) Agentes humorales y hormonales: tales como las catecolami-

nas, la Ang II, la vasopresina, el PNA, la adenosina, el calcio y el potasio (31,34,35,36,39); mas notablemente la Ang II que activa receptores especificos e incrementa el calcio intracelular en las células YG probablemente por interacción con los canales de calcio (40).

1.6. HORMONAS Y AGENTES FARMACOLOGICOS QUE MODIFICAN LA SECRECION DE RENINA

La secreción de renina se puede controlar alterando los mecanismos que regulan su liberación a partir de las células YG, como por ejemplo: modificando las concentraciones extracelulares de calcio o potasio, inhibiendo la ATPasa de sodio-potasio, modificando los potenciales de membrana, etc. Este tipo de alteraciones en las células YG se pueden hacer utilizando hormonas o agentes farmacológicos específicos, cuyo mecanismo de acción se conozca. Enseguida se presenta la explicación de como actúan los agentes farmacológicos utilizados en el presente estudio.

1.6.1. TRIFLUOPERAZINA.

La Trifluoperazina es una fenotiazina que estimula la secreción basal de renina debido a que inhibe a la calmodulina; al parecer, la calmodulina es el mediador intracelular de los efectos inhibitorios del calcio sobre la secreción de renina; la trifluoperazina, también bloquea la inhibición de la secreción de renina producida por agentes que aumentan el calcio citosólico (33,39,41).

1.6.2. FORSKOLINA.

La secreción de renina se estimula por agentes farmacológicos y hormonas que aumentan los niveles intracelulares de AMPc. El diterpeno forskolina, activa directamente a la adenilato-ciclasa (41-43) por lo que se incrementan los niveles intracelulares de AMPc, siendo ésta una señal que estimula la secreción de renina.

1.6.3. β -BRAMPc.

El β -BRAMPc es un análogo del AMPc soluble en lípidos por lo que penetra libremente en las células y reproduce los efectos metabólicos del AMPc, es decir, estimula la secreción de basal de renina.

1.6.4. ISOPROTERENOL.

El isoproterenol es un agonista de los receptores β -adrenérgicos que estimulan a la adenilato-ciclasa ejerciendo su acción estimuladora sobre la secreción de renina a través de estos receptores (34,44,45).

1.6.5. β -BRGMPc.

Cuando se incrementan los niveles intracelulares de GMPc se inhibe la secreción de renina; el β -BRGMPc es un análogo liposoluble del GMPc, por lo que al penetrar a través de la membrana celular inhibe la secreción de renina.

1.6.6. ANGIOTENSINA II.

El efecto inhibitorio de la Ang II sobre la secreción de renina es dependiente del calcio extracelular (39,46). La concentración citosólica de calcio en las células YG aumenta por la acción de la Ang II, y esta es una señal que inhibe la secreción de renina. De tal forma que el sistema renina-angiotensina, cuenta con un proceso de retroinhibición (figura A).

1.6.7. ALTAS CONCENTRACIONES DE POTASIO.

La despolarización de las células YG por altas concentraciones de potasio abre los canales de calcio sensibles a voltaje (47) y esto causa inhibición de la secreción de renina. El potasio, a una concentración de aproximadamente 60 mM, inhibe la secreción de renina en riñón aislado perfundido (48), en rebanadas de corteza renal (49), y en glomérulos aislados (50).

1.6.8. BAJAS CONCENTRACIONES DE POTASIO.

El intercambio sodio-calcio depende del gradiente de sodio del espacio extracelular al espacio intracelular, el cual es mantenido por la ATPasa de sodio-potasio, cuando esta última se inhibe, aumenta la concentración intracelular de sodio lo cual bloquea el intercambio sodio-calcio y por lo tanto aumenta la concentración intracelular de calcio que inhibe la secreción de renina (figura C). Las bajas concentraciones de potasio inhiben la ATPasa de sodio-potasio y por lo tanto inhibe la secreción de renina (39,49,51).

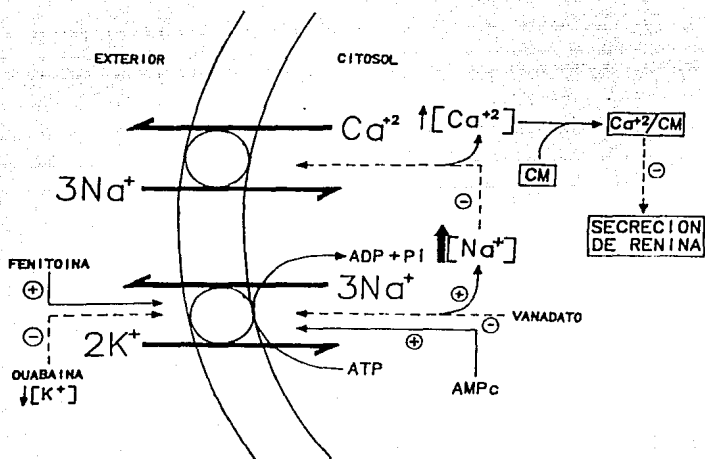


FIGURA C. Papel de la actividad de la bomba de Na⁺ - K⁺ y del intercambiador Na⁺ - Ca⁺⁺.

II. HIPOTESIS.

Como hay una elevada concentración de renina en el plasma de ratas con SN, es posible que los niveles de renina liberada in vitro de rebanadas de corteza renal en ratas con SN experimental sean también altos.

III. OBJETIVOS.

Medir la cantidad de renina liberada por rebanadas de corteza renal in vitro, de ratas con síndrome nefrótico experimental, en condiciones basales y con agentes que estimulan o inhiben la secreción de renina.

Determinar si existen cambios en los niveles de renina activa y renina inactiva en plasma riñón y orina de ratas con síndrome nefrótico experimental.

IV. MATERIAL Y METODOS.

4.1. REACTIVOS.

Los siguientes reactivos se obtuvieron de Sigma Chemical Co. (St Louis Mo.): reactivo de Folin & Ciocalteu, ácido maleico, 8-hidroxiquinolina, 2,3-dimercaptopropanol (dimercaprol), tripsina, inhibidor de tripsina, trizma base, carbón activado, aceite de cacahuate, bencil benzoato, glucosa, forskolina, isoproterenol, angiotensina II, trifluoperazina, 8-Bromoguanosin 3':5'-monofosfato cíclico (8-BrGMPc), 8-Bromoadenosin 3':5'-monofosfato cíclico (8-BrAMPc), albúmina sérica bovina grado RIA y albúmina sérica bovina fracción V.

De J.T. Baker se adquirieron los siguientes reactivos: hidróxido de sodio, carbonato de sodio, cloruro de sodio, cloruro de potasio, sulfato de magnesio, bicarbonato de sodio, fosfato de sodio monobásico, cloruro de calcio y etilendinitrilotetracetato disódico (EDTA).

4.2. DISEÑO EXPERIMENTAL.

Para este trabajo se utilizaron 65 ratas machos (Rattus norvegicus) de la cepa Wistar de 150-200 g de peso las cuales tuvieron libre acceso al alimento y al agua. Se estudiaron 2 grupos:

a) Grupo control : las 27 ratas de este grupo recibieron una inyección subcutánea de vehículo (solución salina al 0.9 %).

b) Grupo con Síndrome Nefrótico (SN): a este grupo, formado por 31 ratas, se les indujo el SN con una inyección subcutánea de ANP al 2% en una dosis de 15 mg/100 g de peso, utilizando como

vehículo solución salina al 0.9 %.

Para determinar la actividad plasmática de prorenina, se utilizó un tercer grupo, de 7 ratas que permanecieron anestesiadas con éter durante 5 minutos antes de ser sacrificadas.

Todas las ratas se mantuvieron en jaulas metabólicas dos días antes de recibir la inyección, y permanecieron allí hasta el día del sacrificio. Se recolectó la orina de 24 h del día 6 para determinar: proteínas urinarias y concentración urinaria de renina activa, total e inactiva.

A los 6 días después de la inyección las ratas se sacrificaron por decapitación (decapitador de animales pequeños de Harvard Apparatus Co.) y se recolectaron muestras de sangre en tubos de ensayo que contenían 0.1 ml de EDTA 500 mM para obtener el plasma por centrifugación (centrífuga refrigerada IEC PR-6000). En el plasma se determinaron: concentración plasmática de renina (CPR), actividad plasmática de renina (APR), renina inactiva y proteínas plasmáticas.

4.3. INCUBACION DE LAS REBANADAS DE CORTEZA RENAL.

En este trabajo se utilizó un sistema de incubación de rebanadas de corteza renal para estudiar la secreción de renina in vitro descrito previamente (44). Se removieron los riñones de las ratas recién decapitadas, se descapsularon y se obtuvieron rebanadas delgadas de 0.05 mm de grosor (microtomo Thomas) de las superficies ventral y dorsal de la corteza renal, cada una de estas rebanadas se dividió en 4 pequeñas rebanadas; se colocaron 2 de estas en cada matraz Erlen-Meyer de 25 ml y se agregaron en 10

ml del medio de incubación a un pH de 7.4 con oxigenación (mezcla de O₂ al 95 % y de CO₂ al 5 %) y agitación constantes durante 1 h a 37 °C (baño de incubación Precision GSA Corporation). El medio de incubación tenía la siguiente composición (en mM): NaCl 128, KCl 4, MgSO₄ 0.8, NaH₂PO₄ 1.3, NaHCO₃ 24, CaCl₂ 2.1 y glucosa (0.2 g/100 ml). este medio de incubación se burbujeó con una mezcla de O₂ al 95 % y CO₂ al 5 %, también se ajustaron la temperatura a 37 °C y el pH a 7.4, antes de poner a incubar las rebanadas.

Según el experimento, se adicionó al medio de incubación uno de los siguientes reactivos, para modificar experimentalmente la secreción de renina: trifluoperazina 100 µM (n=9), 8-BrGMPC 100 µM (n=9), 8-BrAMPC 100 µM (n=8), angiotensina II 1 µM (n=9), forskolina 10 µM (n=7), en otros experimentos se modificó la concentración de potasio: 50 mM (n=8) o medio sin KCl 0 mM (n=7). Finalmente se realizó una curva de dosis-respuesta con isoproterenol, en donde las concentraciones variaron desde 10⁻⁹ M hasta 10⁻⁵ M (n=9).

Al final de 1 h de incubación se separaron alícuotas del medio de incubación para determinar la cantidad de renina activa e inactiva liberada a éste, y en las rebanadas se cuantificaron las proteínas totales. La secreción de renina se expresó como: microgramos de Ang I generados en 1 h de incubación con sustrato de renina por miligramo de proteínas totales de las rebanadas (µg Ang I / h / mg prot).

Se obtuvieron también rebanadas de corteza renal que no fueron incubadas (n=12); a las que una vez homogenizadas en 1 ml de agua desionizada, se les midió: concentración renal de renina

activa, total e inactiva y se calculó el porcentaje de renina inactiva.

Todas las muestras se congelaron hasta el momento de las determinaciones (congelador Revco -70°C).

4.4. METODOS ANALITICOS.

4.4.1. DETERMINACION DE PROTEINAS.

Las proteínas se cuantificaron por el método colorimétrico de Lowry (52), para lo cual se prepararon las siguientes soluciones: Solución A: carbonato de sodio al 2 %, hidróxido de sodio al 0.4% y tartrato de sodio y potasio al 0.02 %.

Solución B: sulfato de cobre al 0.05 %.

Solución C: 50 ml de solución A + 1 ml de solución B.

Solución D: reactivo de folin & ciocalteu 1 N.

Se preparó una curva patrón con albúmina sérica bovina (ASB) al 0.05 % a diferentes concentraciones, de 5 μg hasta 50 μg . La ASB para esta curva y las muestras se colocaron en un volumen final de 0.2 ml, a todos los tubos se les agregó 1 ml de la solución C y se dejaron reposar 10 minutos, después se agregó 0.1 ml de solución D al mismo tiempo que se agitaban las muestras; se incubaron durante 30 minutos y se leyó la densidad óptica a 660 nm.

Antes de determinar las proteínas urinarias, las orinas recibieron el siguiente tratamiento: a 0.1 ml de muestra se le adicionó 1 ml de ácido tricloroacético al 10%, para precipitar las proteínas se centrifugó a 2500 revoluciones por minuto durante 15 minutos, se decantó y se volvió a repetir la misma

operación 3 veces, al término de las cuales se resuspendió el precipitado con 0.6 ml de hidróxido de sodio al 0.5 M.

A las muestras de plasma se les hizo una dilución previa (1:200 ó 1:400) para cuantificar proteínas y a los homogenados de corteza renal se les diluyó 1:20 con el mismo fin.

4.4.2. DETERMINACION DE RENINA Y PRORENINA.

La concentración plasmática de renina, la renina liberada al medio de incubación y la concentración urinaria de renina (CUR), se midieron indirectamente por radioinmunoanálisis (RIA) de Ang I (contador de radiaciones gamma 4/200 micromedic systems) generada por la acción enzimática de la renina en un medio con exceso de angiotensinógeno (obtenido a partir de ratas binefrectomizadas), de tal manera que la formación de Ang I depende sólo de la cantidad de la enzima y no de la concentración de su sustrato. El anticuerpo utilizado para estas determinaciones fue preparado y caracterizado por Zúñiga (53).

La actividad plasmática de renina (APR) se midió también por RIA de Ang I (53), la diferencia es que para medir APR no se usa exceso de angiotensinógeno por lo que la generación de Ang I depende de la cantidad de sustrato endógeno de la muestra.

Antes de agregar el exceso de angiotensinógeno a las muestras, la renina inactiva se activó adicionando tripsina (54) a las siguientes concentraciones: 4.5 mg/ml (concentración final) para plasma (55,56), orina y riñón. Y 0.23 mg/ml (concentración final) para determinar renina liberada al medio de incubación. Por un lapso de 5 minutos a 4 °C se dejó actuar a la tripsina y

se detuvo la reacción con inhibidor de tripsina, a una concentración final de: 9.0 mg/ml en todas las muestras (54,55), a esta determinación se le consideró como renina total (renina activa + renina inactiva); mientras que los controles de cada muestra a los cuales no se les agregó tripsina, se les consideró como renina activa. La renina inactiva fue la diferencia entre la renina total y la activa. Para calcular el porcentaje de renina inactiva, la renina total se consideró como el 100 %. El siguiente paso fue generar Ang I a partir de un exceso de angiotensinógeno y la renina presente en el medio.

La incubación para generar Ang I, en todos los casos, se realizó a 37 °C a un pH 6.0 durante 1 h en presencia de la siguiente mezcla de inhibidores de proteasas: EDTA (2.6 mM), 8 hidroxiquinolina (3.4 mM) y dimercaprol (1.8 mM). Al final de este período se realizó la determinación de renina por RIA de Ang I.

4.5. ANALISIS ESTADISTICOS.

Los resultados que se muestran en las tablas están expresados como la media \pm desviación estándar, mientras que en las gráficas se expresaron como la media \pm error estándar.

Se utilizaron pruebas de "t no pareada" cuando se compararon 2 grupos experimentales y sólo en el caso en el que se compararon 3 grupos se realizó un análisis de varianza (ANOVA). Una $p < 0.05$ se consideró estadísticamente significativa.

V. RESULTADOS.

5.1. CARACTERIZACION DEL SN.

En la tabla 1 se muestran los valores de renina plasmática, proteínas totales en plasma y en orina y volumen urinario de ratas controles y nefróticas. Aquí se observan claramente las principales características del SN: como proteinuria, hipoproteinemia e hiperreninemia. Además es evidente el aumento en la excreción urinaria de renina.

TABLA 1. Niveles plasmáticos y urinarios de proteínas totales y renina en ratas con Síndrome Nefrótico Experimental.

	CONTROLES	NEFROTICAS
Proteínas Urinarias mg/24 h	7.3 ± 2.3 (21)	458 ± 114* (22)
Proteínas Plasmáticas g/dl	6.7 ± 0.4 (24)	4.2 ± 0.5* (27)
Volumen Urinario ml/24 h	9.4 ± 3.2 (31)	17.8 ± 9.9* (27)
Actividad Plasmática de Renina ng Ang I/ ml / h	5.5 ± 1.6 (26)	10.2 ± 4.1* (26)
Concentración Plasmática de Renina ng Ang I/ ml / h	19.8 ± 6.0 (26)	69 ± 22* (24)
Excreción Urinaria de Renina ng Ang I/ 24 h	11.6 ± 7 (10)	3012 ± 1393* (24)

Los datos están expresados como la media ± desviación estándar. El número de determinaciones se encuentra entre paréntesis.
* p < 0.001 comparada vs el control.

5.2. RENINA Y PRORENINA EN PLASMA.

En la tabla 2 aparecen los valores obtenidos de renina activa, total e inactiva y el porcentaje de renina inactiva en ratas controles, nefróticas y anestesiadas (con éter durante 5 minutos); se utilizó este tercer grupo experimental porque se tienen datos de los valores de renina activa e inactiva en el plasma de estas ratas (55). En esta tabla se observa un aumento en renina activa y total, pero hay disminución del porcentaje de renina inactiva tanto en ratas nefróticas como anestesiadas con respecto al grupo control. Sin embargo en cuanto al valor absoluto de renina inactiva, solamente el grupo nefrótico muestra un incremento, mientras que el grupo con anestesia permaneció sin cambio.

TABLA 2. Niveles plasmáticos de renina activa, total e inactiva y porcentaje de renina inactiva en ratas controles nefróticas y anestesiadas.

	ACTIVA	TOTAL	INACTIVA	%INACTIVA
CONTROL (n=7)	15 ± 4	30 ± 6	14 ± 3	49 ± 6
NEFROTICAS (n=9)	76 ± 20**	102 ± 21**	26 ± 12*	26 ± 10**
ANESTESIADAS (n=7)	80 ± 24**	92 ± 22**	12.5 ± 5	14 ± 9**

Los niveles de renina están expresados en ng Ang I/ ml / h. Los datos son la media ± desviación estándar. * p < 0.01, **p < 0.001 vs el control.

5.3. RENINA Y PRORENINA INTRARRENAL.

La tabla 3 muestra los valores intrarrenales de renina activa, total e inactiva y el porcentaje de renina inactiva en las ratas controles y nefróticas. En esta tabla se observa que no existe ninguna diferencia entre ambos grupos.

TABLA 3. Niveles renales de renina activa, total e inactiva y porcentaje de renina inactiva en ratas controles y nefróticas.

	ACTIVA	TOTAL	INACTIVA	%INACTIVA
CONTOLES (n=12)	2.7 ± 1.7	5.8 ± 2.4	3.1 ± 1.7	53 ± 21
NEFROTICAS (n=15)	2.7 ± 1.2	5.6 ± 2.2	2.8 ± 2.0	47 ± 19

Los niveles de renina están expresados como la media ± desviación estándar en $\mu\text{g Ang I/mg de prot.}$

5.4. RENINA Y PRORENINA EN ORINA.

La tabla 4 muestra la excreción urinaria de renina activa, total e inactiva y porcentaje de renina inactiva. Aquí se observa que en todas las determinaciones, las ratas nefróticas tienen valores muy superiores a los excretados por las ratas controles.

TABLA 4. Excreción urinaria de renina activa, total e inactiva y porcentaje de renina inactiva en ratas controles y nefróticas.

	ACTIVA	TOTAL	INACTIVA	%INACTIVA
CONTROLES (n=11)	10.5 ± 5.4	12.5 ± 7.3	1.8 ± 1.1	14.1 ± 5.4
NEFROTICAS (n=7)	3441±1281*	8052±2631*	4611±2099*	55±14*

Los valores de renina están expresados como la media ± desviación estándar en ng Ang I/24 h. * p < 0.001, vs control.

5.5. VALORES BASALES DE LA SECRECIÓN DE RENINA

IN VITRO.

En la tabla 5 se observa que las rebanadas de corteza renal de las ratas nefróticas secretan menos de la mitad de la renina que secretan las rebanadas de ratas controles.

TABLA 5. Secreción de renina de rebanadas de corteza renal de ratas controles y nefróticas.

CONTROLES (n=23)	0.47 ± 0.11
NEFROTICAS (n=24)	0.21 ± 0.09*

Los datos están expresados como la media ± desviación estándar en µg Ang I/ h / mg de proteína. * p < 0.001.

5.6. SECRECION DE RENINA ACTIVA, TOTAL E INACTIVA

IN VITRO.

Los valores obtenidos de renina activa, total e inactiva in vitro se muestran en la tabla 6. Aquí se observa que las rebanadas de corteza renal de ratas nefróticas secretan menores cantidades de renina activa, total e inactiva, mientras que el porcentaje de renina inactiva permanece sin cambio.

TABLA 6. Secreción de renina activa, total e inactiva y porcentaje de renina inactiva en rebanadas de corteza renal de ratas controles y nefróticas.

	ACTIVA	TOTAL	INACTIVA	%INACTIVA
CONTROLES (n=7)	0.49 ± 0.27	0.8 ± 0.46	0.31 ± 0.2	37.4 ± 12.7
NEFROTICAS (n=8)	0.14±0.03**	0.2±0.05**	0.06±0.04*	29.5±15.8

Los datos están expresados como la media ± desviación estándar. En µg Ang I/mg de prot. * p < 0.01, ** p < 0.005 vs el control.

5.7. SECRECION DE RENINA IN VITRO BAJO DIFERENTES AGENTES FARMACOLOGICOS.

En la figura 1 se muestran los efectos que causaron, sobre la secreción de renina, los diferentes estímulos utilizados en las rebanadas de corteza renal, de ratas controles y nefróticas. Tanto en ratas controles como nefróticas, la secreción de renina se estimuló con los siguientes fármacos: trifluoperazina (la

secreción de renina se elevó aproximadamente un 220 %), forskolina (más del 150 %) y 8-BrAMPc (se incrementó más del 160 %). Mientras que los siguientes agentes farmacológicos inhibieron la secreción de renina tanto en nefráticas como en controles: 8-BrGMPc (se inhibió alrededor de un 50 %), Ang II (aproximadamente un 50 %), potasio 50 mM (se inhibió más de un 80 %) y potasio 0 mM (se inhibió un 54 %). Se compararon los valores porcentuales de cada estímulo, entre el grupo control y el nefrático y no se encontraron diferencias estadísticamente significativas, sin embargo los valores absolutos del grupo con SN siempre están por abajo de los valores absolutos del grupo control.

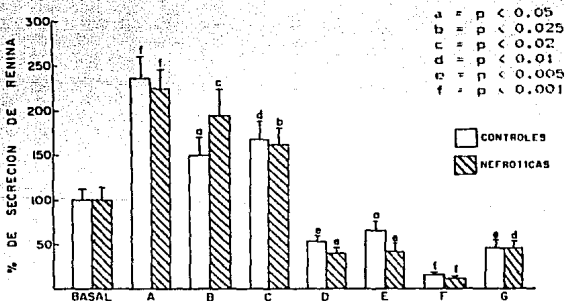


FIGURA 1. SECRECIÓN DE RENINA *IN VITRO*, BAJO DIFERENTES AGENTES FARMACOLÓGICOS. Los valores absolutos de la secreción basal de renina son en controles: 0.4 ± 0.14 y en nefráticas 0.19 ± 0.07 ($\mu\text{g Ang I/h / mg prot}$). A: TRIFLUOPERAZINA $100 \mu\text{M}$ (n=9), B: FORSKOLINA $10 \mu\text{M}$ (n=7), C: 8-BrAMPc $100 \mu\text{M}$ (n=8), D: 8-BrGMPc $100 \mu\text{M}$ (n=9), E: ANGIOTENSINA II $1 \mu\text{M}$ (n=9), F: POTASIO 50 mM (n=8) y G: POTASIO 0 mM (n=7). Los datos de la gráfica están expresados como la media \pm error estándar.

5.8 CURVA DE DOSIS-RESPUESTA CON ISOPROTERENOL.

La figura 2 muestra el efecto de diferentes dosis de isoproterenol sobre la secreción de renina en rebanadas de corteza renal *in vitro*, las concentraciones van desde 10^{-9} M hasta 10^{-5} M. A la izquierda de la figura se muestran los valores absolutos y a la derecha el porcentaje de secreción de renina, el porcentaje se calculó tomando a la secreción basal de renina como el 100 %. En esta gráfica se observa que el isoproterenol estimula la secreción de renina en rebanadas de corteza renal, tanto de ratas controles como nefróticas. Aun cuando los valores absolutos del grupo nefrótico siempre están por abajo de los valores del grupo control. A excepción de un punto en la curva (10^{-8} M), los valores porcentuales muestran una respuesta muy similar dependiente de la dosis. Ambos grupos muestran una secreción máxima de renina a una dosis de 10^{-6} M, esta dosis supera el 210 % de su respectiva secreción basal.

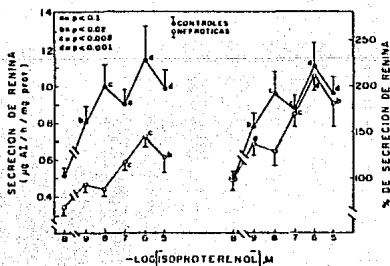


FIGURA 2. CURVA DE DOSIS RESPUESTA CON ISOPROTERENOL. Cada punto de la gráfica es la media \pm error estándar. (n = 9). B: Basal.

VI. DISCUSION.

En la tabla 1 se observa que todas las ratas inyectadas con ANP mostraron proteinuria, hipoproteinemia e hiperreninemia con respecto a las ratas controles.

Aún no se han estudiado los niveles de la prorenina en el SN, pero los resultados del presente trabajo muestran ciertas variaciones que serán analizadas a continuación. Los niveles de renina activa, total e inactiva en el plasma de ratas anestesiadas (tabla 2) coinciden con los encontrados por Barret y cols. (55), en este grupo de ratas se observaron incrementos en renina activa y total, hubo disminución en el % de renina inactiva y la renina inactiva permaneció sin cambios, estos resultados sugieren que la estimulación de la secreción de renina por el éter ocurre principalmente por un incremento en la secreción de renina activa y no de renina inactiva por el riñón. Por su parte los niveles plasmáticos de renina activa, total e inactiva en las ratas con SN aumentaron pero el % de renina inactiva disminuyó (tabla 2), esta disminución en el % de renina inactiva en el plasma de ratas nefróticas puede ser consecuencia del incremento en la excreción urinaria de renina inactiva (tabla 4), en esta tabla se observó también que en el SN la excreción urinaria de renina inactiva aumentó porcentualmente más que la de renina activa. Con base en lo anterior, es posible que en el plasma de ratas con SN la conversión de renina inactiva a renina activa esté estimulada.

La concentración plasmática de prorenina se modifica en ciertas condiciones patológicas y fisiológicas. De tal forma que

se han reportado los siguientes casos: incremento tanto de renina activa como de renina inactiva cuando hay restricción prolongada de sodio o con tratamientos diuréticos (56). Se ha encontrado que los pacientes con diabetes mellitus tienen niveles elevados de prorenina en plasma (57). La nefropatía diabética también es causa común de marcadas elevaciones en la concentración plasmática de prorenina, se ha postulado que existe un defecto en la conversión de prorenina a renina en el riñón de pacientes diabéticos y que esto causa el aumento de la prorenina circulante (58); esta hipótesis implica que en el riñón de diabéticos existe un defecto en el almacenamiento en los gránulos de renina o bien un defecto en la proteólisis. El tracto reproductor femenino es otra fuente importante de prorenina. Las mujeres embarazadas tienen elevados los niveles de prorenina circulante que pueden ir desde el doble hasta 5 veces más que lo normal (59), al parecer son los ovarios, en este caso, la fuente principal de prorenina. Los pacientes con tumores productores de renina tienen una alta concentración de renina circulante, la mayoría de las veces estos tumores se derivan del riñón, pero pueden ser también de origen extrarrenal, cuando estos tumores secretan renina generalmente se produce hipertensión; Una elevada concentración de prorenina asociada con elevación de la presión sanguínea en ausencia de embarazo o nefropatía diabética puede sugerir la presencia de un tumor secretor de renina (19).

Se sabe que los niveles de renina en el plasma de ratas nefróticas están elevados (8,10,18,60), sin embargo no se conocen los mecanismos que provocan este aumento. Es posible que haya un incremento en la síntesis renal de renina para colaborar en esta

elevación y además compensar la excreción urinaria de esta proteína.

La estimulación o la supresión crónica de la secreción de renina está asociada con cambios similares en el contenido renal de renina (61). Sin embargo, se ha informado que cuando hay una estimulación aguda sobre la secreción de renina, el contenido renal de renina disminuye (62), no cambia (63,64,65) o aumenta (66,67). Los resultados del presente trabajo muestran que no hay una elevación en el contenido renal de renina, en la tabla 3 se apreció que los niveles de renina renal activa, total e inactiva así como el porcentaje de renina inactiva no cambiaron en el SN, estos datos están de acuerdo con los informados por Nakamura y cols (63), en los que se indica que ni el ARNm de renina, ni el contenido renal de renina, cambian durante la estimulación aguda de la secreción de renina. Por otra parte, Anderson y cols. (68) encontraron que el ARNm de renina en riñón no cambió en el SN. Los valores del contenido renal de renina encontrados en el presente trabajo son muy similares a los informados por Pedraza-Chaverri y cols (60). Los valores informados en la literatura en cuanto al porcentaje renal de renina inactiva en seres humanos normales son bastante dispersos, ya que van desde el 10 % al 60 % (69-71); mientras que en este trabajo el porcentaje es del 53 ± 21 %.

La interpretación de los resultados obtenidos in vitro es bastante complicada debido a que mostraron un patrón totalmente diferente al esperado. Las rebanadas de corteza renal de ratas controles secretaron más renina que las rebanadas de ratas nefró-

ticas. Sin embargo, la concentración plasmática de renina se encuentra más elevada en las ratas nefróticas. En un momento se pensó en una probable desensibilización de las células YG incubadas in vitro en el SN, pero esta idea quedó descartada de acuerdo con el análisis de los resultados de los experimentos con hormonas y fármacos, en los que se observó que las rebanadas de corteza renal de las ratas con SN responden de manera directamente proporcional a los diversos estímulos utilizados (figuras 1 y 2).

No se han reportado datos que muestren la liberación de renina inactiva por rebanadas de corteza renal de rata, aunque sí existen trabajos con otras especies. Por ejemplo en conejo las rebanadas de corteza renal liberaron al medio 1.3 ng Ang I/ h /mg y esto equivale al 12.5 % de la renina total (72). Las rebanadas de corteza renal de cerdo liberaron al medio 25 pg/mg equivalente al 20 % de la renina total liberada (73). En el presente trabajo el porcentaje de renina inactiva en las rebanadas de ratas controles fue de $37.4 \pm 12.7 \%$.

Si existe una alta concentración plasmática de renina en ratas con síndrome nefrótico experimental y además hay pérdida de renina por orina, es de suponer que la síntesis y/o la secreción de renina renal están estimuladas en el SN. Sin embargo los experimentos in vitro realizados en este trabajo no lo demuestran así. Por lo tanto se pueden proponer varias explicaciones a este fenómeno:

a) Que estímulos hemodinámicos, como la disminución en la presión de perfusión, puedan ser los responsables del aumento de la secreción de renina en el SN, y no están presentes en los

experimentos in vitro.

b) Agentes humorales u hormonales que pueden estar presentes en el animal completo y no in vitro y que jueguen un papel decisivo en la secreción de renina en el SN.

c) Es probable que la disminución de la secreción de renina in vitro en el SN se deba a un incremento en el medio de incubación de la concentración de angiotensina II (Ang II). Ya que las células YG son una fuente renal de Ang II, estudios inmunohistoquímicos han demostrado la coexistencia de Ang II y renina en los gránulos de renina de las células YG (74). Además la Ang II se secreta continuamente en ausencia de angiotensinógeno en el medio de perfusión (75), lo cual constituye una evidencia experimental de la producción intracelular continua de Ang II. Inagami y cols (76) han propuesto la hipótesis de que la Ang II se sintetiza intrarenalmente dentro de las células YG, y que ésta, contribuye para la regulación de ciertas funciones renales. Si la secreción de Ang II está estimulada en las rebanadas de corteza renal de ratas nefróticas, se inhibe la secreción de renina por efecto directo de la Ang II sobre las células YG (tabla 6).

Los datos de la tabla 3 demuestran que la síntesis de renina renal no está estimulada en el SN experimental. Así como la acumulación de renina inactiva en el plasma de humanos anéfricos ha llevado a proponer un posible origen extrarenal de la prorenina (19), se puede pensar que el aumento en la concentración plasmática de renina en las ratas con SN podría tener también un origen extrarenal.

CONCLUSIONES.

El aumento en los niveles circulantes de renina en ratas con SN no pudo explicarse por un aumento en la secreción renal de renina *in vitro*. Los datos sugieren que no existe, en esta etapa del SN, un aumento en la síntesis renal de renina. Por lo tanto es posible que estén participando en este incremento fuentes extrarenales de renina.

La disminución en el porcentaje de renina inactiva en el plasma de ratas nefróticas sugiere que existe una acelerada conversión de esta a renina activa, lo cual puede explicar, al menos en parte, el aumento en la renina activa.

VIII. REFERENCIAS.

1. Vallotton MB. The renin-angiotensin system. *Trends Pharmacol Sci* 1987;8:69-79.
2. Churchill PC. Cellular mechanism of the renin release. *Clin Exp Hypertens* 1988;A10(6):1189-1202.
3. Barajas L. Anatomy of the juxtaglomerular apparatus. *Am J Physiol* 1979;237:F33-F38.
4. Maciel GA. Efecto del captopril sobre la actividad de la enzima convertidora de angiotensina I en el síndrome nefrótico experimental. Tesis de licenciatura. Facultad de Ciencias UNAM 1991.
5. Taugner R, Bührlé CP, Hackenthal E, Mannek E, Nobiling R. Morphology of the juxtaglomerular apparatus and secretory mechanism. *Contrib Nephrol* 1984;43:76-101.
6. Arnell GC. The nephrotic syndrome. *Pediatr Clin North Am* 1971;18:547-559.
7. Heyman W, Lund HZ. Nephrotic syndrome in rats. *Pediatrics* 1951;7:691-706.
8. 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-aldosterone system on sodium retention. *Rev Invest Clin* 1990;42:29-38.
9. Beathard GA. Proteinuria and the nephrotic syndrome. *Tex Med* 1973;69:51-58.
10. Sandoval-Noriega. Efecto del captopril sobre la excreción urinaria de renina, angiotensinógeno y enzima convertidora de angiotensina I en ratas con síndrome nefrótico. Tesis de licenciatura Facultad de Ciencias UNAM 1990.
11. Pedraza-Chaverri J, Cruz C, Ibarra-Rubio ME, Hernández C, Tapia E, Peña JC. Urinary excretion of renin and angiotensinogen in nephrotic rats. *Nephron* 1991;57:106-108.
12. Drabkin DL, Marsh JB. Metabolic channeling in experimental nephrosis. I Protein and carbohydrate metabolism. *J Biol Chem* 1955;212:623-631.
13. Frenk S, Antoniwics I, Craig JM, Metcalf J. Experimental nephrotic syndrome. Renal lesions and body electrolyte composition. *Proc Soc Exp Biol Med* 1955;89:424-427.

14. Fiegelson EB, Drake JW, Recant L. Experimental aminonucleosid nephrosis. *J Lab Clin Med* 1957;50:437-446.
15. Bertani T, Poggi A, Pozzoni R, Delaini F, Sacchi G, Thoua Y, Mecca G, Remuzzi G, Donati M. Adriamycin-induced nephrotic syndrome in rats: sequence of pathologic events. *Lab Invest* 1982;46:16-23.
16. Morisaki N, Matsuoka N, Saito Y, Kumagi A. Lipid metabolism in nephrotic rats induced by daunomycin injection. *Metabolism* 1984;33:405-410.
17. Grand J, Weening JJ, Elema J. Glomerular sclerosis in nephrotic rats. *Lab Invest* 1984;51:277-285.
18. 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 Invest Clin* 1990;42:210-216.
19. Hsueh WA, Bator JD. Human prorenin. *Hypertension* 1991;17:469-479.
20. Faust PL, Chirgwin JM, Kornfeld S. Renin, a secretory glycoprotein, acquires phosphomannosyl residues. *J Cell Biol* 1987;105:1947-1955.
21. Fritz LC, Haidar MA, Reudelhuber TL. Human renin is correctly processed and targeted to the regulated secretory pathway in mouse pituitary At T-20 cells. *J Biol Chem* 1987;262:12409-12412.
22. Taugner R, Murakami K, Kim S. Renin activation juvenile secretory granules? Immunocytochemical experiments with an antiserum directed against the prosegment of human renin. *Histochemistry* 1986;85:107-109.
23. Kelly RB. Pathways of protein secretion in eukaryotes. *Science* 1986;230:25-32.
24. Anderson PW, Macaulay L, Do YS, Sherrod A, d'Ablain G, Koss M, Shinagawa T, Tran B, Montz FJ, Hsueh WA. Extrarenal renin-secreting tumors. Insights into hypertension and ovarian renin production. *Medicine* 1990;68:257-268.
25. Shaw KJ, Do YS, Kjos S, Anderson PW, Shinagawa T, Dubeau L, Hsueh WA. Human decidua is a major source of renin. *J Clin Invest* 1989;83:2085-2092.
26. Hare MT, Ioannou P, Dubiski S, Osmond DH. Regulated systemic activation of rat plasma prorenin. *Hypertension* 1987;10:122-126.

27. Kurtz A, Della BR, Taugner R, Bauer C. Atrial natriuretic peptide inhibits renin release from isolated renal juxtaglomerular cells by cGMP - mediated process. Proc Natl Acad Sci USA 1984;83:4769-4773.
28. Kurtz A, Muff R, Born W. Calcitonin gene-related peptide is a stimulator of renin secretion. J Clin Invest 1988;82:538-543.
29. Kurtz A, Pfeilschifter J, Hutter A. Role of protein kinase C in vasoconstrictor caused inhibition of renin release from isolated juxtaglomerular cells. Am J Physiol 1986;250:C563-C571.
30. Kurtz A, Penner R. Angiotensin II induces oscillation of intracellular calcium and blocks anomalous inward rectifying potassium current in renal juxtaglomerular cells. Proc Natl Acad Sci USA 1989;86:3423-3427.
31. Fray JCS, Lush DJ, Valentine AND. Cellular mechanisms of renin release. Fed Proc 1983;42:3150-3154.
32. Peter S. Ultrastructural studies on the secretory process in the epitheloid cell of the juxtaglomerular apparatus. Cell Tissue Res 1976;168:45-53.
33. Fray JCS, Park CS, Valentine AND. Calcium and the control of renin secretion. Endocr Rev 1987;8:53-93.
34. Keeton TK, Campbell WB. The pharmacologic alteration of renin release. Pharmacol Rev 1981;3:81-227.
35. Kurtz A. Cellular control of renin secretion. Rev Physiol Biochem Pharmacol 1989;113:1-40.
36. Kurtz A, Scholz H, Bruna R. Molecular mechanisms of renin release. J Cardiovasc Pharmacol 1990;16:51-57.
37. Hiruma M, Ikemoto F, Yamamoto K. Rat atrial natriuretic factor stimulates renin release from renal cortical slices. Eur J Pharmacol 1986;125:151-153.
38. Takagi M, Franco-Saenz R, Mulrow PJ. Effect of atrial natriuretic peptide on renin release in a superfusion system of kidney slices and dispersed juxtaglomerular cells. Endocrinology 1988;122:1437-1442.
39. Pedraza-Chaverri J, Ibarra-Rubio ME, Cruz C, Tapia E. Mensajeros intracelulares en la regulación de la secreción de renina. Rev Invest Clin 1989;41:165-176.
40. Skoot O, Salomonsson M, Persson E, Jensen B. Mechanisms of renin release from juxtaglomerular cells. Kidney Int 39:516-519.

41. Hackenthal E, Shwertschiag U, Taugner R. Cellular mechanisms of renin release. *Clin Exp Hypertens* 1983;(A)5:975-993.
42. Kurtz A. Intracellular control of renin release. An overview. *Klin Wochenschr* 1986;64:838-846.
43. Fray JCS, Park CS. Forskolin and calcium interactions in the control of renin secretion and perfusate flow in the isolated rat kidney. *J Physiol* 1986;375:361-375.
44. Pedraza-Chaverri J, Alatorre GM, Peña JC, García SA. Pertussis toxin enhances the beta-adrenergic and blocks the alpha₂-adrenergic regulation of renin secretion in renal cortical slices. *Life Sci* 1986;38:1005-1011.
45. Churchill PC, Churchill MC. Isoproterenol-stimulated renin secretion in the rat: second messenger roles of Ca and cyclic AMP. *Life Sci* 1982;30:1313-1319.
46. Vandogen R, Peart WS. Calcium dependence of the inhibitory effect of angiotensin on renin secretion in the isolated perfused kidney of the rat. *Br J Pharmacol* 1974;50:125-129.
47. Kamp TJ, Miller RJ. Voltage-sensitive calcium channels and calcium antagonist. *ISI Atlas of Science. Pharmacol* 1987; 1:133-138.
48. Fray JCS. Stretch receptor control of renin release in perfused rat kidney: effect of high perfusate potassium. *J Physiol* 1978;282:207-217.
49. Churchill MC, Churchill PC, McDonald FD. Comparison of the effects of rubidium and potassium on renin secretion from rat kidney slices. *Endocrinology* 1983;112:777-781.
50. Baumbach L, Leyssac PP. Studies on the mechanism of renin release from isolates superfused rat glomeruli: effects of calcium ionophore and lanthanum. *J Physiol* 1977;273:745-764.
51. Churchill PC, Churchill MC. Inhibition of in vitro renin release by low extracellular K. *Life Sci* 1979;25:687-692.
52. Lowry OA, Rosenbrough NJ, Farr AL, Randall RJ. Protein measurement with Folin Phenol reagent. *J Biol Chem* 1951;193: 267-275.
53. Zuñiga-Estrada. Producción de reactivos para la determinación de angiotensina I por radioinmunoanálisis. Tesis de licenciatura. Facultad de Química UNAM 1986.
54. Barrett JD, Eggens P. The influence of acute stress on active and inactive renin in the rat. *Clin Exp Hypertens* 1986;(A)8:1171-1178.

55. Barret JD, Eggens P, Sowers JR, Sambhi MP. Effects of stimulation of renin release on trypsin-activable renin in rat plasma. *Am J Physiol* 1982;243:E206-E212.
56. Sealey JE, Atlas SA, Laragh JH. Prorenin and other large molecular weight forms of renin. *Endocr Rev* 1980;1:365-391.
57. Luetscher JA, Kraemer FB, Wilson DM. Prorenin and vascular complications of diabetes. *Am J Hypertens* 1989;2:382-386.
58. deLeiva A, Christlieb AR, Melby JC, Graham CA, Day RP, Luetscher JA, Zager PG. Renin and biosynthetic deficit of aldosterone in diabetes mellitus. *N Engl J Med* 1976;295:639-643
59. Hsueh WA, Luetscher JA, Carlson EJ, Grislie G, Frazee E, McHargue A. Changes in active and inactive renin throughout pregnancy. *J Clin Endocrinol Metab* 1982;54:1010-1016.
60. 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;42:120-126.
61. Naftilan AJ, Oparil S. Effects of sodium intake and Goldblatt hypertension on renin release in rat kidney slices. *Am J Physiol* 1981;240:F501-F507.
62. Dzau VJ, Burt DW, Pratt RE. Molecular biology of the renin-angiotensin system. *Am J Physiol* 1988;255:F563-F573.
63. Nakamura N, Soubrier F, Menard J, Panthier JJ, Rougeon F, Corvol P. Non-proportional changes in plasma renin concentration, renal renin content, and rat renin mRNA. *Hypertension* 1985;7:855-859.
64. Sparks JC, Susu D. The effects of propranolol on plasma renin activity and renal renin concentration in rats on normal and sodium deficient diets. *Pharmacol Res Commun* 1977;9:479
65. Hauger-Klevene JH, DeVito E, Fasciolo JC. The effect of thyroid hormone on renin production and release by rat kidney slices. *Acta Physiol Lat Am* 1977;27:37-41.
66. Opsahal JA, Abraham PA, Katz SA. Effect of acute stimulation of renin secretion on renal renin content *in vivo*. *Kidney Int* 1990;38:440-446.
67. Michelakis AM, Claude J, Liddle GW. *In vitro* stimulation of renin production by epinephrine, norepinephrine and cyclic AMP. *Proc Soc Exp Biol Med* 1969;130:748-753.
68. Anderson S, Ingelfinger J, Hirsch A, Bouyounes B, Brenner BM. Renin-angiotensin system during evolution of nephrotic syndrome. *Clin Res* 1990;38:358A.

69. Atlas SA, Sealey JE, Dharmgrongartama B, Hesson TE, Laragh JE. Detection and isolation of inactive, large molecular weight renin in human kidney and plasma. *Hypertension* 1981;3:30-40.
70. Chang J, Kisaragi M, Okamoto H, Inagami T. Isolation and activation of inactive renin from human kidney and plasma: plasma and renal inactive renin have different molecular weights. *Hypertension* 1981;3:509-515.
71. Hsueh WA, Carlson EJ, Dzan V. Characterization of inactive renin from human kidney and plasma: evidence for a renal source of circulating inactive renin. *J Clin Invest* 1983; 71:506-517.
72. Ginesi LM, Noble AR. Secretion of inactive and active renin by rabbit kidney cortex slices: effects of verapamil, flunarizine and A23187. *Clin Exp Hypertens* 1984; A6(7):1331-1343.
73. Okamura T, Inagami T. Release of active and inactive renin from hog renal cortical slices in vitro. *Am J Physiol*. 1984; 246:F765-F771.
74. Taugner R, Mannek E, Nobiling R, Bührle CP, Hackenthal E, Ganten D, Inagami T, Schröder H. Coexistence of renin and angiotensin II in epithelioid cells secretory granules of rat kidney. *Histochemistry* 1984;81:39-45.
75. Mizuno K, Nakamaru M, Higashimori K, Inagami T. Local generation and release of angiotensin II in peripheral vascular tissue. *Hypertension* 1988;11:223-229.
76. Inagami T, Mizuno K, Higashimori K. Juxtaglomerular cells as a source of intrarenal angiotensin II production. *Kidney Int* 1991;39:S20-S22.