



2ej. 11282  
UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA  
DE MÉXICO

FACULTAD DE MEDICINA  
DIVISION DE ESTUDIOS DE POSGRADO E INVESTIGACION

VALORACION DE LA HEMODINAMIA GLOMERULAR  
EN RATAS CON SINDROME NEFROTICO POR  
AMINONUCLEOSIDO DE PUROMICINA CON  
HIPERTENSION ARTERIAL SISTEMICA  
SOBREAÑADIDA

**T E S I S**

QUE PARA OBTENER EL GRADO DE

DOCTOR EN CIENCIAS MEDICAS

P R E S E N T A :

JOSE DANTE AMATO MARTINEZ

OTOÑO 1992



Universidad Nacional  
Autónoma de México



## **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.**

Indice . . . . .	3
Glosario . . . . .	5
Resumen . . . . .	6
Antecedentes científicos . . . . .	7
- Síndrome nefrótico experimental . . . . .	7
- Hipertensión arterial experimental . . . . .	8
- Mecanismos de progresión del daño renal . . . . .	9
- Lesiones glomerulares y glomeruloesclerosis . . . . .	10
- Mecanismos de glomeruloesclerosis . . . . .	12
- Participación de las células infiltrantes . . . . .	14
- Observaciones en glomeruloesclerosis experimental . . . . .	17
- Daño a las células epiteliales, proteinuria y depósito de macromoléculas en el mesangio . . . . .	18
- Coagulación intraglomerular . . . . .	20
- Fuerzas físicas intrarrenales anormales . . . . .	21
- Factores que afectan la progresión de las lesiones glomerulares . . . . .	23
- Hipertensión sistémica . . . . .	23
- Proteínas de la dieta . . . . .	24
- Metabolismo de los lípidos . . . . .	25
- Hipertrofia glomerular . . . . .	26
- Hemodinamia glomerular . . . . .	29
- Determinantes de la ultrafiltración glomerular . . . . .	29
- Presión de ultrafiltración . . . . .	30
- Coeficiente de ultrafiltración . . . . .	34
- Fracción de filtración por nefrona . . . . .	35
- Autorregulación de la filtración glomerular . . . . .	39
Objetivo . . . . .	41

<b>Métodos . . . . .</b>	<b>43</b>
- Producción del modelo experimental . . . . .	43
- Estudios de micropunción . . . . .	44
- Estudios morfológicos . . . . .	46
- Métodos analíticos . . . . .	47
- Cálculos . . . . .	47
- Análisis estadístico . . . . .	48
<b>Resultados . . . . .</b>	<b>49</b>
- Figura 1 . . . . .	52
- Figura 2 . . . . .	53
- Figura 3 . . . . .	54
- Figura 4 . . . . .	55
- Figura 5 . . . . .	56
- Figura 6 . . . . .	57
- Cuadro 1 . . . . .	58
- Cuadro 2 . . . . .	59
- Cuadro 3 . . . . .	60
<b>Discusión . . . . .</b>	<b>61</b>
<b>Referencias . . . . .</b>	<b>68</b>

## GLOSARIO

- PC** = peso corporal  
**Hto** = hematócrito  
**TAM** = tensión arterial media.  
**TAS** = tensión arterial sistólica  
**PBF** = presión con bloqueo de flujo  
**P<sub>Co</sub>** = presión capilar glomerular  
**PFL** = presión con flujo libre  
**ΔP** = gradiente de presión hidráulica transcapilar glomerular  
**PHP** = presión hidráulica pericapilar  
**C<sub>A</sub>** = concentración de proteínas en arteriola aferente  
**C<sub>E</sub>** = concentración de proteínas en arteriola eferente  
**Π<sub>A</sub>** = presión oncótica aferente  
**Π<sub>E</sub>** = presión oncótica eferente  
**FF/N** = fracción de filtración por nefrona  
**FG/N** = filtración glomerular por nefrona  
**FP/N** = flujo plasmático por nefrona  
**R<sub>A</sub>** = resistencia aferente  
**R<sub>E</sub>** = resistencia eferente  
**Kf** = coeficiente de ultrafiltración  
**ANP** = aminonucleósido de puromicina

## RESUMEN

Para valorar la contribución de la hipertensión arterial sistémica en la progresión de las nefropatías a esclerosis glomerular, agregamos una forma leve de síndrome nefrótico por aminonucleósido de puromicina a hipertensión renovascular en un grupo de ratas que se compararon con ratas intactas (testigo), con hipertensión renovascular sola y con síndrome nefrótico por aminonucleósido de puromicina solo. La presión arterial sistólica, la proteinuria de 24 horas, el colesterol y los triglicéridos séricos, la hemodinamia glomerular y algunos datos histológicos se compararon entre los cuatro grupos. Las ratas con hipertensión sola y aquellas en las que se agregó hipertensión al síndrome nefrótico, desarrollaron elevación de las cifras tensionales de magnitud similar, pero sólo las ratas con ambos trastornos asociados tuvieron proteinuria persistente. En ninguno de los grupos hubo alteraciones del metabolismo de los lípidos. Los datos más notables en los estudios de micropunción fueron un aumento significativo de la presión capilar glomerular en las ratas con ambos trastornos asociados ( $63.15 \pm 1.34$  mm Hg) comparado con el grupo testigo ( $48.74 \pm 0.97$  mm Hg) y con los grupos de hipertensión sola y síndrome nefrótico solo ( $55.31 \pm 2.11$  y  $48.17 \pm 1.23$  mm Hg, respectivamente), y una notoria disminución del coeficiente de ultrafiltración (Kf) en el grupo de síndrome nefrótico solo y en el grupo con síndrome nefrótico e hipertensión. Sólo las ratas de este último grupo tuvieron alteraciones histológicas significativas, como glomeruloesclerosis, lesiones intersticiales y aumento del área glomerular.

Estos resultados sugieren que, en presencia de una nefropatía subyacente, cuando hay hipertensión sistémica, se transmite una fracción mayor de la presión sistémica a los capilares glomerulares. La elevación resultante de la presión capilar glomerular y la proteinuria parecen ser responsables de la progresión a glomeruloesclerosis.

## ANTECEDENTES CIENTIFICOS

### SINDROME NEFROTICO EXPERIMENTAL

La descripción original del modelo murino de síndrome nefrótico experimental que se usó en este trabajo la hicieron Frenk y colaboradores en 1955 (53). La inyección subcutánea de aminonucleósido de puromicina [6-dimetilamino-9-(3'-amino-3'-desoxi-β-D-ribofuranosil) purina], en 10 a 12 días consecutivos, a dosis de 1.5 mg/100 g de peso corporal del animal, produjo edema generalizado, ascitis, proteinuria intensa, hipoproteinemia, hiperlipidemia e hiperazoemia. El cuadro histológico de esta nefropatía fue similar al de la enfermedad de cambios mínimos o nefrosis lipóide, que es la causa de la mayor parte de los casos de síndrome nefrótico en la infancia.

El informe provocó interés inmediato y otros grupos de investigadores publicaron estudios con este modelo (46,140), que desde entonces se ha usado ampliamente (1,24,27,32,40,44,51,57,64,71,77,79,91,92,97,101,109-111,125,126,130,133,136,141), y se sigue usando (10,29,59,73,76,112-115,132) para estudiar el síndrome nefrótico.

La gravedad de la nefropatía que produce el aminonucleósido de puromicina en la rata depende de varios factores entre los que se encuentran la dosis, la frecuencia y la vía de administración, la cepa de rata utilizada, la dieta y la administración simultánea de otros fármacos.

La forma más leve de nefropatía por aminonucleósido de puromicina es similar, tanto clínica como histológicamente, a la enfermedad humana de cambios mínimos. Se trata de un trastorno autolimitado en el que la proteinuria desaparece espontáneamente después de 3 a 8 semanas (53).

Las formas graves de nefropatía por aminonucleósido de puromicina producen un cuadro clínico e histológico similar al de la glomeruloesclerosis focal y segmentaria (60).

Se ha descrito que puede lograrse la producción de

glomeruloesclerosis focal y segmentaria después de una sola dosis pequeña (5 mg/100 g de peso) de aminonucleósido de puromicina administrada por vía intravenosa (33), aunque en el presente estudio, esta forma de administración del tóxico produjo una forma de nefropatía leve. En la nefropatía grave, con esclerosis glomerular focal y segmentaria, la proteinuria no desaparece en forma espontánea, sino que persiste durante toda la evolución y la función renal se deteriora en forma progresiva (4).

Los factores que pueden contribuir al desarrollo de esclerosis glomerular focal y segmentaria en las formas graves de nefropatía por aminonucleósido de puromicina son lesiones irreversibles de las células epiteliales glomerulares, aumento del tránsito de moléculas flogógenas a través del mesangio, hiperfiltración, hiperperfusión o hipertensión glomerular, alteraciones en el metabolismo de los proteoglicanos que forman la barrera de carga aniónica de la membrana basal glomerular, aumento en la síntesis de heparan sulfato, disminución del grosor de la lámina rara externa de la membrana basal glomerular, disminución de número y carga de los sitios aniónicos y mayor grado de sulfatación de los proteoglicanos.

Existe otro modelo de síndrome nefrótico experimental, que también se ha usado ampliamente, en el que la alteración se produce mediante la inyección de adriamicina (47).

#### **HIPERTENSION ARTERIAL EXPERIMENTAL**

El modelo de hipertensión arterial que se usó en este trabajo fue el descrito por Goldblatt y colaboradores en 1934 (61). En el trabajo clásico de Goldblatt se describe la producción de hipertensión arterial sistémica en perros mediante la aplicación de un clip para ocluir parcialmente la luz de una de las arterias renales, por lo que se le considera un modelo de hipertensión renovascular.

En trabajos previos se han combinado los efectos de diversos tipos de nefropatías experimentales subyacentes, con hipertensión de Goldblatt (22,96,105) o con otros tipos de hipertensión



experimental (41,107,108,124). Hasta donde tenemos noticia, no hay trabajos previos publicados en los que se hayan combinado la nefrosis por aminonucleósido de puromicina con la hipertensión de Goldblatt. En los trabajos previos de nefropatía con hipertensión sobreañadida, no se han correlacionado los cambios morfológicos con cambios en la hemodinamia glomerular.

#### MECANISMOS DE PROGRESION DEL DAÑO RENAL

La insuficiencia renal crónica, una vez establecida, tiende a progresar a insuficiencia renal terminal. Aunque hay ciertas excepciones, los esfuerzos para detener, o por lo menos hacer más lenta la progresión del daño renal han tenido poco éxito.

Los mecanismos subyacentes en la progresión de las lesiones renales han sido difíciles de esclarecer porque el tejido renal, tanto glomerular como intersticial, tiene un repertorio de respuestas a la agresión muy limitado y, por tanto, éstas son similares ante diferentes tipos de agentes patógenos. Muchos mecanismos patogénicos convergen en una vía común, consistente en la producción de esclerosis, en la cual, las estructuras celulares especializadas son reemplazadas por fibroblastos, colágena y matriz mesangial, lo que causa trastorno o pérdida de las funciones como filtración, secreción y resorción. Mediante el examen histológico suele ser imposible dilucidar la causa de la esclerosis o determinar si el agente patógeno continua actuando. Por otro lado, el tejido renal dañado muestra propensión a seguir deteriorándose. En modelos experimentales animales, parece claro que la insuficiencia renal puede progresar incluso aunque la agresión original haya desaparecido. Por lo tanto, el riñón puede autopetpetuar su deterioro como resultado de sus respuestas a la agresión.

La mayor parte de las formas de enfermedad renal progresiva llevan a un final común desde el punto de vista histológico, el "riñón terminal", en el que suele haber disminución de la masa total. Los glomérulos presentan pérdida de capilares, áreas localizadas de proliferación celular y aumento progresivo de tejido

cicatricial que finalmente hace que el lecho capilar se colapse. Los túbulos, en particular los que están cercanos a glomérulos con cicatrices, se atrofian y a menudo están rodeados por infiltrado inflamatorio. Hay fibrosis difusa caracterizada por depósito de colágena, matriz mesangial y lípidos y aumento en el número de fibroblastos. A la microscopía electrónica, las membranas basales, tubular y glomerular a menudo están engrosadas en los estadios tempranos de la enfermedad y forman condensaciones de material amorfo en las fases tardías. Tanto en pacientes como en animales de experimentación con insuficiencia renal, la evolución de la esclerosis glomerular se caracteriza por el deterioro progresivo de segmentos dentro de glomérulos individuales y del número de glomérulos afectados y por la atrofia y obliteración de las estructuras tubulares. El deterioro de las funciones glomerulares y tubulares correlaciona con los cambios histológicos. En los estadios tempranos de la glomeruloesclerosis se desarrolla proteinuria que, típicamente, va seguida de reducción de la filtración glomerular y del flujo sanguíneo renal. La atrofia tubular se manifiesta por deterioro progresivo de la capacidad renal para concentrar la orina y excretar ácido.

#### **LESIONES GLOMERULARES Y GLOMERULOESCLEROSIS**

Las lesiones glomerulares son la causa más frecuente de insuficiencia renal progresiva. La reducción de la filtración glomerular es el dato más notable. Las lesiones glomerulares pueden deberse a depósito de compuestos biológicamente activos (inmunoglobulinas, componentes del complemento, crioglobulinas, amiloide, lipoproteínas, toxinas y ciertos componentes de la pared celular de las bacterias). Otros factores que pueden iniciar y continuar el daño glomerular son la coagulación intracapilar o extracapilar, la acumulación de matriz mesangial (como resultado de aumento en la producción, disminución de la degradación o ambos) y varios factores promotores del crecimiento o mediadores de la inflamación, liberados por células residentes o inmigrantes, como las células T, neutrófilos, monocitos, macrófagos o plaquetas. La

lesión glomerular también puede ser iniciada o facilitada por factores mecánicos, como la hiperperfusión glomerular o la hipertensión intracapilar o por trastornos metabólicos secundarios a enfermedades sistémicas como diabetes o hiperlipidemia.

La glomeruloesclerosis puede deberse a un proceso agudo y fulminante como una vasculitis necrosante, pero con más frecuencia se debe a padecimientos crónicos. La glomeruloesclerosis puede ser focal y segmentaria, y afectar a la menor parte de los glomérulos o sólo segmentos de ellos, o puede ser difusa y afectar todos los glomérulos. En el ser humano, la glomerulosclerosis focal y segmentaria tiene diversas causas. Puede presentarse en fases tempranas de la evolución del síndrome nefrótico o desarrollarse después de varios años en pacientes con enfermedad de cambios mínimos. Se ha observado en diversas enfermedades glomerulares caracterizadas por proteinuria, como nefropatía por IgA, enfermedad de células falciformes, obesidad masiva, agenesia renal unilateral, síndrome de Alport, trasplante renal o abuso de analgésicos. La glomeruloesclerosis difusa, ya sea aguda o crónica, puede acompañar a diversas enfermedades sistémicas, que se agrupan en grandes categorías como: enfermedades vasculares (hipertensión esencial o maligna, esclerodermia y trombosis intravascular), enfermedades metabólicas asociadas con depósitos distintivos (diabetes, amiloidosis, mieloma múltiple y crioglobulinemia), enfermedades hereditarias (enfermedad de Fabry y deficiencia familiar de lecitina colesterol acil transferasa) y enfermedades inmunitarias (lupus eritematoso sistémico y otras vasculitis como el síndrome de Goodpasture). El envejecimiento se asocia con glomeruloesclerosis lentamente progresiva. Hasta 40% de los glomérulos pueden presentar algún grado de esclerosis en la octava década de la vida. Las glomerulopatías idiopáticas primarias, que pueden presentarse como una glomerulopatía difusa que evoluciona a glomeruloesclerosis son la glomerulonefritis membranosa, la mesangioproliferativa, la membranoproliferativa y la que presenta proliferación extracapilar.

### MECANISMOS DE GLOMERULOESCLEROSIS

Elementos estructurales del glomérulo que participan en la glomeruloesclerosis.

El glomérulo está constituido por una red de capilares originada en la arteriola aferente. Después de dividirse en cuatro a ocho lóbulos para formar el penacho glomerular, los capilares se unen de nuevo para formar la arteriola eferente. En el penacho glomerular hay cuatro tipos de células distintas (células endoteliales, mesangiales, epiteliales y macrófagos residentes), una pared capilar (la membrana basal) y la región intersticial o de apoyo (mesangio). El penacho glomerular está rodeado por la cápsula de Bowman, una extensión de la membrana basal del túbulo proximal, que tiene una capa única de células planas (células epiteliales parietales). La membrana basal glomerular es porosa y permite el paso de agua y solutos de bajo peso molecular. La filtración de las proteínas plasmáticas está limitada por el tamaño de los poros y por una barrera de glucosaminoglucanos aniónicos que repelen a las proteínas del plasma, cargadas negativamente.

Las células endoteliales revisten la luz de los capilares glomerulares y presentan poros o fenestraciones, lo que permite el paso del ultrafiltrado del plasma. Las células epiteliales viscerales (podocitos) son las células de mayor tamaño en el glomérulo y sintetizan colágena tipo IV, laminina y heparán sulfato. Los procesos podocíticos o pedicelos de estas células cubren la superficie externa de la membrana basal glomerular. Se ha pensado que la fusión de pedicelos que se observa en enfermedades caracterizadas por proteinuria puede deberse a pérdida de las cargas negativas.

El mesangio es la porción intersticial del lóbulo glomerular y está compuesto por células mesangiales y matriz mesangial, un material fibrilar de mucopolisacáridos y glucoproteínas. La entrada de una sustancia al espacio mesangial no requiere el paso de ésta a través de la membrana basal glomerular. Por tanto, el mesangio tiene contacto directo y constante con las sustancias del plasma y con las células inflamatorias de la sangre o los productos

que éstas secretan. La carencia de membrana basal puede exponer al mesangio a los efectos directos de factores mecánicos como cambios de presión y volumen. En las glomerulonefritis del ser humano, en ocasiones, el único sitio donde se encuentran depósitos de complejos inmunitarios es el mesangio.

Las células mesangiales se parecen a los leiomiocitos. Contienen miosina y se contraen y relajan en respuesta a diversos agentes vasoactivos (como angiotensina II, tromboxano A<sub>2</sub> y prostaglandina E<sub>2</sub>), lo que produce cambios en el área glomerular disponible para la filtración. Las células mesangiales pueden generar prostaglandinas y mediadores de la inflamación, producir y degradar la membrana basal y sintetizar citocinas. Además, fagocitan macromoléculas, inclusive complejos inmunitarios. Las células mesangiales pueden producir factor de crecimiento derivado de las plaquetas, factor de crecimiento epidérmico e interleucina-1, y responder a estas sustancias en forma autocrina. Por lo tanto, la célula mesangial tiene la capacidad, no sólo de regular la filtración glomerular, sino también de contribuir a los cambios histológicos del glomérulo mediante proliferación, remodelación de la membrana basal y síntesis de matriz mesangial.

En el mesangio también hay macrófagos residentes. En el mesangio de las ratas, de 3 a 5% de las células tienen el antígeno común de los leucocitos y el antígeno Ia, que indican que estas células se originan en la médula ósea; son fagocitos y pueden iniciar respuestas inmunitarias *in situ* gracias a su capacidad para captar antígenos y presentarlos a linfocitos sensibilizados. En los glomérulos humanos normales hay menor cantidad de macrófagos.

La acumulación de matriz mesangial y de membrana basal glomerular parece tener un papel clave en la progresión de las enfermedades glomerulares. Las células endoteliales y epiteliales participan en la síntesis de membrana basal glomerular, en tanto que las células mesangiales y quizá las epiteliales, forman la matriz mesangial. La membrana basal glomerular normal y la matriz mesangial contienen varias glucoproteínas, inclusive colágena de tipo IV y V, fibronectina, laminina y diversos glucosaminoglucanos

como los proteoglicanos heparán sulfato y condroitín sulfato. El aumento en la síntesis o la disminución en la degradación de la membrana basal glomerular y de la matriz mesangial pueden dar lugar a esclerosis y pérdida de los glomérulos. En los riñones enfermos hay colágena tipo I y III que no se encuentran en los riñones normales. En las células mesangiales cultivadas de rata, el trímico de tipo I parece ser la colágena predominante, pero no se ha demostrado su presencia en glomérulos *in vivo*.

#### **PARTICIPACION DE LAS CELULAS INFILTRANTES**

La glomeruloesclerosis progresiva se asocia típicamente con infiltración de células inflamatorias al intersticio, en particular macrófagos y linfocitos. Aunque el infiltrado leucocitario originalmente se consideró como un epifenómeno, en la actualidad parece claro que estas células pueden contribuir a la progresión de las enfermedades renales. La mayor parte de las enfermedades glomerulares que se acompañan de esclerosis se caracterizan por el infiltrado de macrófagos en el glomérulo en fases tempranas de la enfermedad, antes de que se presente la destrucción glomerular. El infiltrado de macrófagos se ha asociado con proteinuria y reducción del funcionamiento renal en diversas glomerulopatías en animales y seres humanos. Por razones que aún no son del todo claras, los monocitos tienden a migrar dentro del mesangio y de ahí pasan al intersticio. Los macrófagos son potencialmente destructores y pueden liberar enzimas capaces de degradar la colágena y la elastina (y por tanto, afectar la membrana basal glomerular y la matriz mesangial), generar moléculas activas de oxígeno (32) y fagocitar. Sin embargo, las lesiones renales que se caracterizan por la presencia de células inmunitarias, aunque son progresivas, no suelen asociarse con evidencia de necrosis o destrucción aguda. Por lo tanto, la contribución de macrófagos y linfocitos a la glomeruloesclerosis parece relacionarse más con su capacidad de modular la actividad biológica de las células renales intrínsecas, en particular las células mesangiales, que con su capacidad de ocasionar daño renal directo. Al inhibir a los macrófagos mediante

la aplicación de rayos X a dosis subletales, pueden prevenirse las lesiones renales terminales en la nefrosis por aminonucleósido de puromicina (39). Los macrófagos pueden estimular la proliferación de fibroblastos y la síntesis de colágena, ambas características prominentes de la nefroesclerosis intersticial. Los factores derivados de los macrófagos también estimulan la proliferación de las células endoteliales y aumentan su capacidad para activar plaquetas y atraer otros monocitos.

El riñón es particularmente susceptible a la acción de las plaquetas debido a que tiene una superficie endotelial muy grande. Las plaquetas pueden liberar sustancias que afectan la estructura o la función del glomérulo, como el factor activador de plaquetas, el tromboxano  $A_2$  y la heparinasa. el factor plaquetario 4, que es muy catiónico, se une ávidamente a los polianiones glomerulares y puede provocar proteinuria al neutralizar las cargas negativas. Las moléculas reguladoras del crecimiento, como el factor de crecimiento derivado de las plaquetas, pueden hacer que proliferen las células mesangiales. En pacientes, la coagulación intravascular, la púrpura trombocitopénica trombótica y el síndrome hemolítico urémico se asocian con agregación plaquetaria y liberación de mediadores vasoconstrictores, procoagulantes e inflamatorios. En enfermedades crónicas, como la glomerulonefritis membranoproliferativa, la nefritis lúpica, la nefropatía diabética y en el rechazo de trasplante renal, hay activación de las plaquetas conforme pasan por el lecho capilar glomerular, que se manifiesta por la presencia de proteínas catiónicas derivadas de las plaquetas.

La participación de factores derivados de células intrínsecas o infiltrantes.

El factor activador de las plaquetas, un fosfolípido con muchos efectos biológicos, es producido por macrófagos, plaquetas y células glomerulares endoteliales y mesangiales. En las nefritis, los glomérulos liberan factor activador de las plaquetas. Se desconoce si procede de las células mesangiales o de leucocitos

infiltrantes. El factor activador de las plaquetas estimula a las células mesangiales para que liberen tromboxano y otras prostaglandinas, lo que causa disminución del área glomerular. La administración intrarrenal de factor activador de plaquetas reduce el flujo sanguíneo renal y la filtración glomerular, aumenta la permeabilidad vascular, hace que se acumulen plaquetas y neutrófilos en el riñón, que las plaquetas se activen y desgranulen, que aumente la cantidad de compuestos catiónicos liberados por plaquetas y neutrófilos y produce proteinuria. Algunos de estos efectos pueden deberse directamente al factor activador de plaquetas; otros, a la liberación de sustancias biológicamente activas como tromboxano  $A_2$ , leucotrienos y moléculas activas de oxígeno, causada por el factor activador de plaquetas.

El factor de crecimiento derivado de las plaquetas es una proteína catiónica sintetizada por las células glomerulares endoteliales y mesangiales y por las plaquetas. Es un mitógeno potente y es factor de crecimiento para fibroblastos, células mesangiales y leiomiocitos. Es un factor quimiotáctico para macrófagos y fibroblastos y es un vasoconstrictor potente. *In vivo*, puede provocar proliferación mesangial, aumento en la síntesis de la matriz mesangial y finalmente glomeruloesclerosis. El factor de crecimiento derivado de las plaquetas puede hacer que se liberen ciertos mediadores de la inflamación como prostaglandinas, leucotrienos y moléculas activas de oxígeno.

Tanto las plaquetas como los macrófagos pueden producir tromboxano  $A_2$ , poderoso vasoconstrictor de la circulación renal, que también hace disminuir la filtración glomerular, al menos en parte, mediante disminución del coeficiente de ultrafiltración ( $K_f$ ) como resultado de la contracción de las células mesangiales. Además, el tromboxano  $A_2$  activa la agregación plaquetaria. En modelos experimentales de glomerulonefritis aguda y crónica, está aumentada la síntesis de tromboxano  $A_2$  por los glomérulos (18). En diversos modelos de enfermedad renal, los inhibidores de síntesis de tromboxano  $A_2$  aumentan el flujo plasmático renal y la filtración glomerular, disminuyen la proteinuria y evitan el daño



histológico (133).

La heparinasa liberada por las plaquetas puede degradar el heparán sulfato. La pérdida de dicha sustancia, a su vez, puede afectar la permeabilidad selectiva de la membrana basal glomerular y producir proteinuria. Las plaquetas también pueden neutralizar las cargas negativas en el glomérulo mediante la liberación de proteínas catiónicas como el factor plaquetario 4.

La interleucina 1 se describió inicialmente como un factor derivado de los macrófagos, con efecto modulador de la activación de las células T, pero ahora se le considera una citocina con múltiples efectos sobre tejidos no relacionados con la función inmunitaria. Estos efectos se relacionan directamente con el envejecimiento glomerular. Los macrófagos son la principal fuente de interleucina 1, pero también la secretan otras células como las endoteliales y mesangiales. La interleucina 1 promueve la adherencia de los neutrófilos y monocitos al endotelio y estimula a las células inmunitarias para que liberen tromboxano A<sub>2</sub>. Las células endoteliales liberan factor activador de las plaquetas y expresan actividad procoagulante en respuesta a la interleucina 1. En conjunto con el factor de crecimiento derivado de las plaquetas, la interleucina 1 estimula la proliferación de fibroblastos y células mesangiales. También puede regular la remodelación de la matriz mesangial mediante la estimulación de los fibroblastos y células mesangiales para que sinteticen colágena y liberen proteasas que degradan la colágena y la elastina. En un modelo murino de nefritis lúpica, el RNAm que codifica para la síntesis de interleucina 1, se encontró elevado en las células mesangiales.

#### **OBSERVACIONES EN GLOMERULOESCLEROSIS EXPERIMENTAL**

En las ratas se desarrollan lesiones glomerulares que se parecen mucho a las de glomeruloesclerosis focal de los seres humanos. Dichas lesiones pueden aparecer espontáneamente en ratas viejas o en ratas obesas de Zucker. También puede producirse glomeruloesclerosis experimental mediante nefrectomía unilateral (42), nefrectomía subtotal (55,99,127), la inyección de

doxorubicina (adriamicina) (47) o aminonucleósido de puromicina (4), o en la diabetes causada por estreptozotocina (145).

Cuando se administra aminonucleósido de puromicina a las ratas, se producen cambios morfológicos que se parecen mucho a la enfermedad de cambios mínimos de los seres humanos (53). Las inyecciones intraperitoneales repetidas de aminonucleósido de puromicina causan proteinuria persistente y cambios morfológicos que se parecen a los de la glomeruloesclerosis focal (60). La nefrectomía unilateral, la administración de protamina (sustancia muy catiónica que neutraliza las cargas negativas de la membrana basal glomerular), o ambas juntas, aceleran notablemente el desarrollo de glomeruloesclerosis progresiva e insuficiencia renal (123).

Los modelos experimentales de glomeruloesclerosis mencionados tienen varios atributos en común. En todos ellos hay hipertrofia glomerular. Las anomalías histológicas glomerulares más tempranas aparecen en las células epiteliales y el mesangio. Las células epiteliales desarrollan vacuolas en el citoplasma y fusión de los pedicelos. Hay aumento del número de células mesangiales y expansión de la matriz mesangial. En el modelo de aminonucleósido de puromicina hay hipertrofia y activación de los macrófagos residentes, e infiltración del mesangio por monocitos. El aumento del área mesangial causa colapso segmentario del lecho capilar y pérdida de la filtración en el segmento afectado. Se presenta proteinuria asociada con cambios en la composición y organización de la membrana basal glomerular, que a su vez puede tener como consecuencia un aumento en el tránsito de proteínas séricas dentro y a través de la región mesangial.

#### **DAÑO A LAS CELULAS EPITELIALES, PROTEINURIA Y DEPOSITO DE MACROMOLECULAS EN EL MESANGIO.**

Aunque la patogénesis de la glomeruloesclerosis focal se ha atribuido a "daño" de las células epiteliales o a "disfunción" de las células mesangiales, los mecanismos responsables del trastorno siguen siendo desconocidos. Se han propuesto diversas

posibilidades para explicar la patogenia de la glomeruloesclerosis focal en ratas a las que se les ha administrado aminonucleósido de puromicina. Por ejemplo, hay aumento del tránsito de macromoléculas, lo que causa "sobrecarga de las células mesangiales", que a su vez produce proliferación celular, aumento en la producción de matriz mesangial, lesión de las células mesangiales y finalmente, glomeruloesclerosis. El aumento de tráfico de macromoléculas a través del mesangio se asocia con hiperfiltración e hiperperfusión glomerular; aunque algunos estudios recientes han puesto en duda la importancia de estos factores hemodinámicos en la progresión del daño renal (47,143), hay otros (2,4,145), incluyendo la presente tesis, que apoyan el punto de vista de que los factores hemodinámicos son de la mayor trascendencia. El aminonucleósido de puromicina también causa anormalidades en la degradación de los proteoglucanos y otros componentes aniónicos de la membrana basal glomerular (28,86,87,90,93) y hace que se pierda la barrera de selectividad de carga eléctrica y se lesionen las células epiteliales (98), lo que contribuye a la proteinuria crónica, y ésta a su vez, tiene un efecto tóxico mal definido sobre las células glomerulares (13,14,25,65,78,100,117,129,144). El aumento del tránsito de macromoléculas a través del área mesangial se atribuye a cambios glomerulares intrínsecos, puesto que en un riñón dado, el depósito de macromoléculas varía de glomérulo a glomérulo y correlaciona bien con el grado de esclerosis. El aumento en el paso de macromoléculas puede deberse a disminución de la carga aniónica en los capilares glomerulares, lo que aumenta el tránsito de proteínas y lipoproteínas. Las áreas de glomeruloesclerosis focal corresponden a aquellas en las que hay ausencia de polianiones. La valoración de biopsias renales de pacientes con síndrome nefrótico o ratas con nefrosis producida experimentalmente sugieren que la proteinuria intensa se asocia con retardo en la depuración de los complejos inmunitarios por el mesangio. La acumulación resultante de estos complejos en el glomérulo puede ser un factor predisponente para el desarrollo de glomeruloesclerosis focal

(15,20).

La noción de que la proteinuria *per se* puede ser dañina para el glomérulo surgió de la observación de que la administración intravenosa de grandes cantidades de albúmina heteróloga a animales normales produce proteinuria por "sobrecarga" que persiste después de que se ha excretado por completo la albúmina heteróloga. En las células epiteliales glomerulares, se observa vacuolización, fusión de pedicelos y desprendimiento focal de la membrana basal glomerular, datos similares a los que se observan en ratas que reciben aminonucleósido de puromicina. Esta posible relación causal entre daño de las células epiteliales y proteinuria, puede explicar la asociación, observada en seres humanos y animales, entre esclerosis focal y grado y cronicidad de la proteinuria. Se ha propuesto que las lesiones en las células epiteliales pueden ocasionar anomalías estructurales en el mesangio de la siguiente forma. Las células epiteliales glomerulares en cultivo liberan un inhibidor del crecimiento de las células mesangiales que tiene propiedades similares a las de la heparina. La administración de heparina reduce la hipertrofia glomerular y disminuye la gravedad de la glomeruloesclerosis focal en ratas con nefrectomía subtotal (118) o con nefrosis por aminonucleósido de puromicina (31). Por tanto, las lesiones de las células epiteliales pueden inhibir la liberación de una sustancia intrínseca similar a la heparina con efectos inhibidores del crecimiento y producir cambios en la estructura del mesangio.

#### **COAGULACION INTRAGLOMERULAR.**

La coagulopatía intraglomerular puede contribuir a la progresión de la glomeruloesclerosis. La administración de heparina o warfarina reduce la glomeruloesclerosis en ratas con nefrectomía subtotal. Debido a que dichos fármacos afectan la coagulación, se ha sugerido que la activación local de la cascada de la coagulación puede participar en la glomeruloesclerosis. Puede presentarse trombosis intraglomerular como resultado de activación de la coagulación por complemento, activación de

plaquetas por productos de las células endoteliales o macrófagos, o la expresión de actividad procoagulante de la membrana o liberación de factores procoagulantes por macrófagos activados o células endoteliales (85).

La heparina reduce la glomeruloesclerosis sin afectar la hemodinamia glomerular en ratas con riñón remanente. Se ha pensado que este efecto no se debe a las propiedades anticoagulantes de la heparina, puesto que la heparina N-desulfatada, que carece de actividad anticoagulante, también reduce las lesiones glomerulares (118). La heparina tiene propiedades antiproliferativas. Suprime el crecimiento de células mesangiales de rata en cultivo en forma dependiente de la concentración. Las células glomerulares epiteliales y endoteliales producen sustancias similares a la heparina, que pueden ser destruidas por heparinasa. Los mecanismos que participan en la acción antiproliferativa (o antiinflamatoria) de la heparina se desconocen. Sin embargo, se ha pensado que la acción inhibidora del crecimiento de la heparina puede ser responsable de su capacidad de retardar la glomeruloesclerosis, quizá mediante supresión de crecimiento y expansión del mesangio que son posibles prerequisites para el desarrollo de lesiones en la enfermedad renal progresiva.

#### **FUERZAS FISICAS INTRARRENALES ANORMALES.**

Se ha propuesto que los mecanismos que llevan a insuficiencia renal crónica en una variedad de lesiones renales son el aumento en la perfusión glomerular y la hipertensión capilar glomerular (70). De acuerdo con esta hipótesis, conforme se pierde la función de los glomérulos afectados por esclerosis, los glomérulos menos dañados sufren aumento de la perfusión en forma compensadora, lo que produce hipertensión capilar glomerular, y ésto a su vez lleva a lesión, esclerosis progresiva y finalmente a pérdida total del glomérulo. Diversas maniobras experimentales que suprimen los cambios hemodinámicos tempranos reducen la extensión de los cambios tardíos en la estructura glomerular. Las dietas bajas en proteínas (34,95,106) y el uso de inhibidores de la enzima convertidora de

angiotensina I (4,5,21,95,119,121), reducen la hipertensión capilar glomerular y la glomeruloesclerosis subsecuente en diversos modelos experimentales de daño renal. Por otro lado, las dietas altas en proteínas y la administración de esteroides aumentan tanto la hipertensión capilar glomerular como la glomeruloesclerosis.

Sin embargo, en fecha reciente, algunos investigadores han presentado datos que no apoyan la existencia de una relación causal simple entre los trastornos hemodinámicos del glomérulo y el desarrollo de esclerosis (47).

La administración de un inhibidor de la síntesis de tromboxano  $A_2$ , reduce la tensión arterial sistémica y aumenta en forma importante el flujo plasmático renal y la filtración glomerular por nefrona en el modelo de riñón remanente. A pesar del aumento de la filtración glomerular por nefrona y del flujo plasmático por nefrona, los animales tratados con el inhibidor de la síntesis de tromboxano, tuvieron menos proteinuria y daño glomerular. En un modelo de hipertensión arterial, al reducir la presión con un antagonista de los canales de calcio, no se obtuvo una disminución concomitante de la presión capilar glomerular, pero se obtuvo protección contra la progresión del daño renal (43). Algunos autores han informado que la administración de inhibidores de la enzima convertidora de angiotensina protege contra el desarrollo de glomeruloesclerosis sin modificar los parámetros hemodinámicos (47), aunque otros investigadores que han explorado este punto específico han informado que los inhibidores de la enzima convertidora de angiotensina reducen eficazmente la presión capilar glomerular (2,4).

Por otro lado, los donadores de riñón, que aumentan su filtración glomerular por nefrona, no presentan daño en el riñón remanente, cuando se les estudia a largo plazo.

La producción de renina y angiotensina II en el riñón puede participar en forma importante en la patogenia de las lesiones glomerulares progresivas. La angiotensina II produce mayor vasoconstricción en la arteriola eferente que en la aferente. Como resultado, aumenta la presión capilar glomerular. La angiotensina

II también causa contracción mesangial. Sin embargo, la angiotensina II también tiene otros efectos biológicos que pueden ser importantes en el desarrollo de la glomeruloesclerosis. Aumenta el paso de macromoléculas circulantes al mesangio y disminuye su egreso, independientemente de su efecto hemodinámico y estimula la proliferación de las células renales.

Se han hecho estudios sobre el estado funcional del sistema renina-angiotensina-aldosterona en ratas con nefrosis por aminonucleósido de puromicina (10,64,112,113), y en seres humanos con síndrome nefrótico (97). Se ha descrito que se presenta un aumento notable de la actividad de la renina plasmática, de la concentración de renina plasmática, de la actividad de la enzima convertora de angiotensina y de la aldosterona plasmática (112). Se han usado inhibidores de la enzima convertora de angiotensina en ratas con nefrosis por aminonucleósido de puromicina para intentar modificar la evolución de la nefropatía y para esclarecer ciertos mecanismos fisiopatológicos (4,21,94,95,114,119,121,131). Hay resultados contradictorios; algunos investigadores han informado que puede detenerse la progresión de la nefropatía (4), pero otros autores no han presentado buenos resultados (94,131). De cualquier forma, se ha generado gran optimismo respecto a la posible aplicación clínica de los inhibidores de la enzima convertora de angiotensina, para detener la progresión del daño renal (45,83).

#### **FACTORES QUE AFECTAN LA PROGRESION DE LAS LESIONES GLOMERULARES.**

Las anomalías mecánicas o metabólicas pueden acelerar la glomeruloesclerosis, ya sea en forma directa, o al promover la participación de uno o más de los factores antes descritos, de los cuales, los más importantes parecen ser la hipertensión sistémica, el aporte de proteínas en la dieta, la hiperlipidemia y la hipertrofia glomerular (84).

#### **HIPERTENSION SISTENICA.**

La hipertensión sistémica tiene efectos adversos sobre el riñón y puede iniciar el desarrollo de nefropatía (como en la

nefroesclerosis hipertensiva) o puede acelerar la pérdida de la función renal en enfermedades parenquimatosas ya establecidas (139). Los mecanismos mediante los cuales la hipertensión daña al riñón en las nefropatías, no se han esclarecido. Ha estado en boga la teoría de que la hipertensión puede producir hipertrofia vascular que a su vez conduce a esclerosis glomerular isquémica, aunque en la actualidad pocos investigadores la aceptan. Por otro lado, la hipertensión sistémica puede causar glomeruloesclerosis mediante la producción de hipertensión glomerular con aumento en la perfusión y la filtración glomerular por nefrona, que lleva a daño de las células endoteliales.

#### **PROTEINAS DE LA DIETA.**

Desde hace más de 20 años se sabe que los pacientes con nefropatía que consumen dietas muy bajas en proteínas tienen menos síntomas de uremia que los que reciben dietas normales, y que la progresión de su enfermedad parece hacerse más lenta. La aplicación de estas observaciones clínicas ha estado limitada por los efectos nutritivos adversos de las dietas que se usaban inicialmente. La disminución en la ingestión de las proteínas evita la glomeruloesclerosis en diversos modelos de nefropatías en ratas, como la diabetes experimental, el riñón remanente y la nefrosis por aminonucleósido de puromicina (34,95,106), y reduce la magnitud de ciertos cambios funcionales y estructurales que pueden contribuir a la esclerosis. Se ha demostrado que la disminución en la ingestión de proteínas reduce la hipertrofia glomerular y la elevación de las presiones y flujos intraglomerulares. La restricción de proteínas tiene otros efectos biológicos que pueden hacer más lenta la progresión de las enfermedades renales. La restricción de proteínas disminuye los lípidos séricos y reduce la activación de las células inmunitarias. También suprime la proliferación celular e interfiere los efectos de factores mitógenos y de crecimiento. Además, la reducción de proteínas en la dieta puede inhibir la coagulación intraglomerular. En animales alimentados con dietas altas en proteínas, la excreción de



tromboxanos en la orina aumenta. Por lo anterior, la restricción de proteínas de la dieta puede modificar la progresión de las enfermedades renales mediante diversos mecanismos.

#### **METABOLISMO DE LOS LÍPIDOS.**

El gran parecido de las células mesangiales con los leiomiocitos, y la participación preponderante de éstos últimos en la patogenia de la aterosclerosis, ha llevado a suponer que la acumulación de lípidos en las células mesangiales puede hacer que se desarrolle glomeruloesclerosis focal (81). En muchas células, como los leiomiocitos y quizá las células mesangiales, hay receptores para las lipoproteínas, que funcionan como transportadoras de lípidos. Al igual que las células de músculo liso vascular que participan en la aterogénesis, las células mesangiales expuestas a grandes cantidades de lipoproteínas (lipoproteínas de baja densidad y de muy baja densidad), pueden incorporar lípidos, que a su vez pueden estimular la producción de colágena y proteoglucanos, y llevar a "atrapamiento" de lípidos; éste a su vez puede causar proliferación de las células mesangiales, depósito excesivo de membrana basal glomerular y finalmente, glomeruloesclerosis focal. Las lipoproteínas pueden unirse a glucosaminoglucanos polianiónicos en la matriz mesangial y en la membrana basal glomerular, y alterar la permeabilidad de ésta última al neutralizar las cargas negativas. Las lipoproteínas de baja densidad también pueden hacer que los monocitos se adhieran a las células endoteliales. El contenido de lípidos de la membrana basal glomerular puede aumentar hasta en 75% en glomerulonefritis. En riñones transplantados se ha observado un aumento de los lípidos al doble de lo normal y de colesterol a cinco veces más que lo normal en la membrana basal glomerular.

Las dietas ricas en colesterol producen glomeruloesclerosis focal en diversos modelos de nefropatías experimentales, incluyendo a la nefrosis por aminonucleósido de puromicina (35). La disminución de los lípidos séricos mediante tratamiento farmacológico con lovastatina, ácido clofibríco (74) o probucol

(69) reduce la esclerosis glomerular en estos modelos. El ejercicio, que disminuye la concentración de lípidos séricos en ratas, también reduce la glomeruloesclerosis focal y la proteinuria, y mejora el funcionamiento renal. Las dietas ricas en ácido linoléico, precursor del ácido araquidónico, disminuyen la hipertensión, la magnitud de la proteinuria, la esclerosis glomerular y la insuficiencia renal en diversos modelos de nefropatías en ratas. Estos efectos pueden estar mediados por prostaglandinas. Ya que entre los pacientes con enfermedad renal crónica, particularmente los que tienen síndrome nefrótico, son frecuentes las anomalías en el metabolismo de los lípidos, las maniobras que disminuyen la concentración de lípidos séricos pueden ser benéficas para frenar o detener la progresión de la enfermedad renal crónica.

#### **HIPERTROFIA GLOMERULAR.**

La hipertrofia glomerular puede contribuir a las lesiones de los glomérulos en muchos de los modelos animales en los que se supone que participa la hipertensión capilar glomerular. La hipertrofia glomerular suele asociarse con la esclerosis glomerular. Es un modelo de lesión glomerular que incorpora muchos de los factores contribuyentes descritos. Tanto en seres humanos como en animales, el tamaño glomerular aumenta después de la nefrectomía subtotal. La nefrectomía unilateral, que acelera la glomeruloesclerosis en diversos modelos experimentales de nefropatía, estimula la hipertrofia de los glomérulos afectados. En la diabetes mellitus, el desarrollo de la nefropatía diabética está precedido por hipertrofia glomerular notable.

Los glucocorticoides pueden acelerar la progresión de la glomeruloesclerosis en ciertos modelos de nefropatías en ratas y se ha demostrado que promueven la hipertrofia renal y suprimen la actividad de colagenasas (104).

Las dietas altas en proteínas modulan el tamaño glomerular en

animales normales y reducen la hipertrofia renal que se observa después de la nefrectomía o en diabetes causada por estreptozotocina. La administración de inhibidores de la enzima convertidora de angiotensina I también disminuye la hipertrofia glomerular. Algunos autores han informado que hay correlación estrecha entre hipertrofia glomerular y esclerosis a nivel de nefronas individuales en diversos modelos de daño renal. Los riñones de pacientes con esclerosis glomerular focal tienen glomérulos sustancialmente más grandes que los de controles pareados por edad o pacientes con síndrome nefrótico por enfermedad de cambios mínimos (48,49,52,102,103,142,143).

La hipertrofia glomerular se ha atribuido a trastornos de la hemodinamia glomerular, en particular a la hipertensión capilar glomerular, pero en fechas recientes, algunos investigadores han puesto en duda este punto de vista (47,49,143). Otro mecanismo al que se ha atribuido el crecimiento de los glomérulos es la producción de factores tróficos que estimulan la formación de matriz mesangial y/o suprimen su proceso de degradación (52).

La diversidad de sus causas, lo impredecible de su evolución clínica y el conocimiento cada vez mayor de las situaciones que pueden acelerar o retardar su progresión sugieren que la esclerosis glomerular no puede atribuirse a un solo trastorno de la fisiología glomerular.

Los agentes que lesionan el epitelio glomerular tienden a causar glomeruloesclerosis. La activación crónica del mesangio se asocia con proliferación e infiltración de células y expansión de la matriz mesangial que preceden a la esclerosis (62,120). Más allá de cierto umbral de lesión glomerular, tanto las células intrínsecas del glomérulo como las que lo infiltran tiene la capacidad de alterar el microambiente glomerular de manera que la esclerosis progresa inexorablemente, mucho tiempo después de la desaparición del mecanismo agresor inicial.

Hay diversos factores de riesgo potenciales que pueden contribuir a la progresión de la insuficiencia renal crónica. Entre ellos están la hipertensión sistémica, la proteinuria, la

hiperlipidemia, las dietas altas en proteínas y, quizá, ciertas situaciones que producen hipertrofia glomerular. Las maniobras que minimizan la contribución potencial de estos factores a la progresión de la insuficiencia renal pueden detener o retardar la pérdida de la función renal.

### HEMODINAMIA GLOMERULAR.

Para estudiar la hemodinamia de las nefronas se usan técnicas de micropunción. Richards fue el primero en hacer estudios de micropunción renal en ranas, y publicó sus datos en 1921 (122). Walker y Oliver publicaron los primeros experimentos de micropunción en riñones de mamífero (rata) (137). El método se ha validado y se ha usado ampliamente para estudiar múltiples aspectos de la fisiología renal (7). Hay informes previos de estudios de micropunción renal en el modelo de nefrosis por aminonucleósido de puromicina en la rata (4,47,56). En el laboratorio del Departamento de Nefrología del Instituto Nacional de Cardiología "Ignacio Chávez" se tiene experiencia con las técnicas de micropunción (50,56,67,68).

### DETERMINANTES DE LA ULTRAFILTRACION GLOMERULAR.

La fuerza que determina la tasa de ultrafiltración de líquido a través de la pared capilar glomerular ( $P_{UF}$ ), al igual que en el resto de los capilares, está dada por el gradiente de presión hidráulica transcapilar ( $\Delta P$ ), que favorece la filtración y el gradiente correspondiente de la presión coloidosmótica ( $\Delta \Pi$ ), que se opone a ella. En cualquier punto a lo largo de la pared capilar glomerular, la tasa de ultrafiltración es igual al producto de la permeabilidad hidráulica local efectiva de la pared capilar ( $k$ ) y la presión de ultrafiltración ( $P_{UF}$ ). La tasa de ultrafiltración para toda la red capilar de un solo glomérulo está dada por:

$$\begin{aligned} FG/N &= Kf \cdot P_{UF} \\ &= Kf (\Delta P - \Delta \Pi) \\ &= k \cdot S \cdot [P_{CG} - P_T] - (\Pi_{CG} - \Pi_T) \end{aligned} \tag{1}$$

en donde  $FG/N$ , la filtración glomerular por nefrona es el producto del coeficiente de ultrafiltración,  $Kf$ , y la presión de ultrafiltración promedio a lo largo de toda la red capilar,  $P_{UF}$ . El coeficiente de ultrafiltración,  $Kf$ , es el producto de  $k$  y el área disponible para la filtración,  $S$ , y  $P_{UF}$  es la diferencia entre la

presión hidráulica transcápilar media y la presión oncótica media,  $\Delta P$  y  $\Delta \Pi$  respectivamente. El gradiente de presión hidráulica transcápilar medio,  $\Delta P$ , es igual a la diferencia entre la presión hidráulica media dentro del capilar glomerular ( $P_{CG}$ ) y la presión en el lado urinario del capilar filtrante, es decir, el espacio de Bowman. Puesto que las presiones medidas simultáneamente en el espacio de Bowman y en segmentos superficiales del túbulo proximal ( $P_T$ ) de la misma nefrona son esencialmente idénticas, la  $P_T$  se mide rutinariamente y el valor obtenido se emplea en la ecuación 1. El gradiente de presión oncótica transmural medio ( $\Delta \Pi$ ) es igual a la diferencia entre la presión oncótica media del plasma dentro del capilar glomerular ( $\Pi_{CG}$ ) y la presión oncótica del filtrado en el espacio de Bowman ( $\Pi_T$ ). Debido a que la composición de este filtrado es muy parecida a la del ultrafiltrado del plasma ideal, la concentración total de proteínas es muy baja y  $\Pi_T$  puede considerarse nula. Por tanto,  $\Delta \Pi$  es esencialmente igual a  $\Pi_{CG}$ .

#### **La presión de ultrafiltración media neta.**

##### **1. Gradiente de presión hidráulica transcápilar.**

Los avances tecnológicos recientes en metodología de micropunción y el descubrimiento de la cepa de ratas Munich-Wistar que tienen glomérulos en la superficie de la corteza renal, accesibles a micropunción, han permitido la medición directa de la presión hidráulica media del capilar glomerular,  $P_{CG}$ , cuya magnitud debe conocerse para valorar los determinantes hemodinámicos del proceso de ultrafiltración. La medición directa de la  $P_{CG}$  en estas ratas fue posible por la aplicación de la técnica de medición de presión denominada "servo-null". Esta técnica permite el uso de micropipetas con diámetro de la punta muy pequeño, entre 2 y 4  $\mu m$  y permite el registro continuo de la  $P_{CG}$  en capilares glomerulares con diámetro de 8  $\mu m$  o menos.

El valor de la  $P_{CG}$  es de aproximadamente 40% de la presión media de la aorta y es algo menor que el obtenido en las estimaciones indirectas que deben hacerse en animales sin glomérulos superficiales, mediante el método del bloqueo del flujo.

En la técnica del bloqueo del flujo se supone que al interrumpir el flujo del líquido a lo largo del túbulo mediante la inserción de un obstáculo (aceite), la presión dentro del túbulo se eleva hasta llegar a un valor suficiente para interrumpir la filtración. El valor de  $P_T$  medido de esta manera se denomina presión con bloqueo de flujo. De acuerdo con la ecuación 1, cuando la suma de esta medida de  $P_T$  y  $\Pi_{CG}$  (ambas presiones se oponen a la formación de ultrafiltrado) se iguala a la presión hidráulica dentro del capilar glomerular,  $P_{CG}$ , la filtración cesa puesto que la fuerza neta que favorece la filtración se ha reducido a cero. Por lo tanto, la presión hidráulica dentro del capilar glomerular, se ha estimado indirectamente como la suma de la presión intratubular con bloqueo de flujo y la presión coloidosmótica intracapilar, la cual, en ausencia de filtración, se supone que es igual a  $\Pi_A$ . Aunque la validez de esta técnica se ha cuestionado, ya que se supone que el acto de bloquear el flujo tubular puede elevar las cifras de la  $P_{CG}$ , es la única técnica disponible para estimar su valor en animales sin glomérulos superficiales.

Puesto que la caída en la presión axial a lo largo de la red capilar glomerular es muy pequeña, se considera el mismo valor para la  $P_{CG}$  en los extremos aferente y eferente del capilar. La presión hidráulica intratubular con flujo libre,  $P_T$  promedia ~10 mm Hg, por tanto, el valor promedio del gradiente de presión hidráulica transcápilar glomerular a lo largo de la red, es de aproximadamente 35 mm Hg.

## 2. Gradiente de presión oncótica transcápilar.

La medición de la concentración de proteínas plasmáticas totales (C) en los extremos aferente y eferente del capilar glomerular,  $C_A$  y  $C_E$  respectivamente, revelan que C se eleva conforme la sangre fluye a lo largo de la red capilar glomerular, como consecuencia del hecho de que el filtrado es esencialmente libre de proteínas. En la práctica de la micropunción, el valor de  $C_A$  no se mide directamente, sino que se considera igual al valor de C en plasma de sangre de una arteria sistémica (usualmente la femoral). El valor de  $C_E$  se determina a partir de mediciones hechas

en plasma de sangre obtenida directamente de arteriolas eferentes superficiales. Los valores de  $C_A$  y  $C_E$  promedian 5-6 g/dl y 8-9 g/dl, respectivamente. La presión oncótica calculada a partir de estos valores de concentración de proteínas plasmáticas, aumenta de un valor mínimo de alrededor de 20 mm Hg en el extremo aferente de la red capilar glomerular ( $\Pi_A$ ), hasta aproximadamente 35 mm Hg en el extremo eferente ( $\Pi_E$ ). La presión local neta de ultrafiltración,  $P_{UF}$ , o sea, la diferencia entre  $\Delta P$  y  $\Delta \Pi$ , disminuye de un máximo de alrededor de 15 mm Hg en el extremo aferente de la red, hasta cero en el extremo eferente. En otras palabras, en algún punto cercano al extremo eferente de la red capilar glomerular,  $\Delta \Pi$  alcanza un valor que iguala y se opone a  $\Delta P$ , y por tanto, evita la formación de más ultrafiltrado. La igualdad de  $\Delta P$  y  $\Delta \Pi$  se conoce como equilibrio de la presión de filtración.

En vista de la relativa constancia del valor de  $\Delta P$  a lo largo del capilar glomerular, la disminución en el valor local de la  $P_{UF}$  desde un valor aferente (máximo) de alrededor de 15 mm Hg hasta un valor eferente (mínimo) de cero, es consecuencia casi exclusivamente del incremento progresivo de  $\Delta \Pi$ . La reducción de  $\Pi$  a lo largo de la red capilar glomerular no es rectilínea, debido a que la tasa local de ultrafiltración es proporcional a la presión de ultrafiltración, de manera que la formación de ultrafiltrado es más rápida en el extremo aferente de la red. Por tanto, la concentración de proteínas y la presión oncótica aumentan con mayor rapidez en el extremo aferente del capilar glomerular. Un efecto adicional que contribuye al aumento exponencial de la presión oncótica a lo largo del glomérulo se relaciona con el hecho de que el aumento en la presión oncótica no es directamente proporcional al aumento en la concentración de proteínas, como se observa en la ecuación de Landis y Pappenheimer (89).

Debido a que la presión oncótica sólo puede medirse en muestras de sangre arterial sistémica (que se toma como representativa de la sangre en el extremo aferente del capilar glomerular), y en sangre de las arteriolas eferentes, no puede determinarse el perfil exacto de los cambios en la presión oncótica



en toda la longitud del capilar glomerular por medición directa. En vista de la incertidumbre en la determinación del perfil exacto de presión oncótica en un animal en equilibrio de la presión de filtración (es decir, cuando el gradiente de presión oncótica en el extremo eferente del capilar glomerular es idéntico al gradiente de presión hidráulica), no es posible afirmar un valor exacto o único para la  $P_{UF}$ , y sólo puede calcularse un valor máximo si se da por hecho que: (1) la elevación de  $\Delta\Pi$  a lo largo del capilar glomerular es rectilínea y (2) que  $\Delta\Pi$  se iguala con  $\Delta P$  en el punto más eferente del capilar glomerular. Estas dos suposiciones hacen que el valor de  $P_{UF}$  esté sobreestimado en un grado que depende de (1) el grado en que la curva verdadera de  $\Delta\Pi$  se aparte de la recta, y (2) el sitio exacto en que se alcanza el equilibrio de presión de filtración en el capilar glomerular. Dada esta incertidumbre en el cálculo de un valor único para la  $P_{UF}$  bajo condiciones de equilibrio de la presión de filtración, es imposible calcular un valor único para el coeficiente de ultrafiltración glomerular,  $K_f$ , ya que éste está dado por:

$$K_f = \frac{FG/N}{P_{UF}} \quad (2)$$

Esta ecuación se obtiene al despejar  $K_f$  en la ecuación 1.

Para cualquier valor dado de filtración glomerular por nefrona, un valor único de  $K_f$  requiere un valor único de  $P_{UF}$ , el cual, como ya se anotó, es una cantidad inexacta bajo condiciones de equilibrio de la presión de filtración. Por tanto, los valores de  $K_f$  que se calculan, corresponden a los mínimos posibles, con el uso de un valor máximo de  $P_{UF}$ .

Si se aumenta en forma suficiente el flujo plasmático glomerular,  $Q_A$ , el valor de la presión oncótica en el punto más distal del capilar glomerular será significativamente menor que el valor correspondiente de  $\Delta P$ . La ventaja de esta circunstancia en la que no se obtiene equilibrio de la presión de filtración es que

sólo una curva de  $\Delta\Pi$  puede conectar los valores medidos de  $\Pi_A$  y  $\Pi_E$ , dadas las restricciones impuestas por las hipótesis de Starling y de conservación de masas. Por tanto, cuando se obtiene el desequilibrio, sólo puede calcularse un perfil único de  $\Delta\Pi$  a partir de los valores medidos de  $C_A$ ,  $C_E$ ,  $\Delta P$  y  $Q_A$ .

#### B. El coeficiente de ultrafiltración.

Se ha usado el método de aumentar  $Q_A$  para asegurar el desequilibrio en ratas Munich-Wistar, en forma experimental, con lo que se ha logrado calcular perfiles únicos de  $\Delta\Pi$ , y por tanto, valores únicos de  $P_{UF}$  y  $K_f$ . La administración de plasma isooncótico de rata en un volumen correspondiente al 5% del peso corporal, sirvió para aumentar  $Q_A$  a cerca de 200 ml/min y con ello se logró el desequilibrio. Los valores promedio de  $K_f$  calculados fueron de  $\sim 0.08$  nl/(s.mm Hg). Además se encontró que el  $K_f$  permanece esencialmente sin cambios ante modificaciones de  $Q_A$  hasta del doble, lo que sugiere que las variaciones de  $Q_A$  no afectan el  $K_f$ . Esto parece ser cierto también en situaciones en las que el  $K_f$  está disminuido como en glomerulopatías primarias. En otro estudio, mediante reducción isovolémica del hematócrito se logró aumentar  $Q_A$  hasta producir desequilibrio, sin producir expansión del volumen plasmático. Los valores de  $K_f$  fueron similares, en promedio  $\sim 0.07$  nl/(s.mm Hg).

Puesto que  $K_f = k.S$ , la permeabilidad hidráulica efectiva ( $k$ ) de la pared capilar glomerular puede calcularse a partir del  $K_f$  y de estimaciones disponibles del área de filtración, que diferentes autores han calculado entre 0.0019 y 0.0028 cm<sup>2</sup>. Los valores calculados de  $k$ , usando un valor de  $K_f$  de 0.08 nl/(s.mm Hg), son de 28.6 a 42.1 nl/s.mm Hg.cm<sup>2</sup>). Estos valores de la permeabilidad hidráulica del glomérulo de rata son aproximadamente uno a dos órdenes de magnitud mayores que los de capilares en otros tejidos, como mesenterio de rana, músculo esquelético de rata, capilares peritubulares de rata y epiplón de conejo. Por tanto, esta permeabilidad hidráulica tan alta permite que la filtración glomerular ocurra con rapidez a pesar de que el gradiente de

presión de filtración sea de sólo 5 mm Hg en promedio en la rata hidropénica normal.

**C. La fracción de filtración por nefrona.**

La fracción de filtración por nefrona,  $FF/N$ , es la parte del flujo plasmático glomerular que se filtra. Puede expresarse como:

$$FF/N = \frac{FG/N}{Q_A} \quad (3)$$

La  $FF/N$  puede calcularse experimentalmente a partir de los valores medidos de  $C_A$  y  $C_E$ . Así:

$$FF/N = 1 - \frac{C_A}{C_E} \quad (4)$$

$$= 1 - \frac{\Pi_A}{\Pi_E}$$

lo cual, bajo condiciones de equilibrio de presión de filtración, puede representarse como:

$$= 1 - \frac{\Pi_A}{\Delta P}$$

Por tanto, puesto que en condiciones de equilibrio de presión de filtración el valor de  $FF/N$  es independiente de  $Q_A$  y  $K_f$ , sus determinantes últimos son  $C_A$  y  $\Delta P$ , como se señala en la ecuación 4.

El valor de  $\Delta P$  limita el valor final al que pueden llegar  $C_E$  y, por tanto  $\Pi_E$  en el extremo eferente del capilar.

III. Efectos de variaciones selectivas en los diferentes determinantes de la  $FG/N$ .

Como se mostró en la ecuación 1, pueden producirse cambios en la filtración glomerular por nefrona al modificar ya sea el coeficiente de ultrafiltración,  $K_f$ , o la presión de ultrafiltración,  $P_{UF}$ , que a su vez está determinada por  $\Delta P$ ,  $\Pi_A$ ,  $Q_A$  y  $K_f$ .

A. Variaciones selectivas del flujo plasmático glomerular inicial.

En los animales bajo condiciones de equilibrio de la presión de filtración, los cambios de  $Q_A$  en ausencia de cambios de  $C_A$  y  $\Delta P$ , no afectan la concentración de proteínas en la arteriola eferente,  $C_E$ , y por lo tanto, tampoco modifican la presión oncótica eferente,  $\Pi_E$ , la cual, bajo condiciones de equilibrio, puede determinarse sólo con el valor de  $\Delta P$ . Al cambiar  $Q_A$ , la  $FG/N$  varía en forma directamente proporcional y la  $FF/N$  permanece constante. Sin embargo, los grandes aumentos de  $Q_A$  tienden a producir desequilibrio, y por lo tanto, valores progresivamente menores de  $C_E$  y, por ende, de la presión oncótica en la arteriola eferente,  $\Pi_E$ , puesto que este último parámetro no alcanza un valor lo suficientemente alto para igualar y oponerse a  $\Delta P$ . Por lo tanto, para cualquier valor dado de  $K_f$ ,  $\Delta P$  y  $C_A$ , la  $FF/N$  debe disminuir si aumenta  $Q_A$ , como puede verse en la ecuación 3.

El grado de dependencia de la  $FG/N$  en el flujo plasmático por nefrona,  $Q_A$ , (o de la filtración glomerular del riñón completo en el flujo plasmático renal) se ha usado como un índice para valorar si se ha obtenido el equilibrio de presión de filtración.

## B. Variaciones selectivas en el gradiente de presión hidráulica transcápilar glomerular.

La ultrafiltración de líquido a través de las paredes de la red capilar glomerular ocurre sólo cuando el valor local de  $\Delta P$  excede al de  $\Delta \Pi$ . Por lo tanto, para valores de  $\Delta P$  menores de 20 mm Hg (el valor normal de la presión oncótica en la arteriola aferente), la  $FF/N$  y la  $FG/N$  son iguales a cero, puesto que incluso en el extremo aferente del capilar glomerular, no existe una fuerza que produzca la ultrafiltración. Conforme  $\Delta P$  aumenta, el incremento resultante en la ultrafiltración hace que también aumente  $\Delta \Pi$ , aunque en menor proporción. Esto tiende a nulificar el aumento de  $\Delta P$ . Si el aumento en la presión oncótica no ocurriera, la  $P_{UF}$  y, por lo tanto, la  $FG/N$  se elevarían en forma directamente proporcional a  $\Delta P$ . En animales en equilibrio de presión de filtración, el valor de la  $FF/N$  está determinado solamente por el valor de  $\Delta P$  y  $C_A$ , puesto que el primero de estos parámetros determina el valor al que puede elevarse la presión oncótica en la arteriola eferente y la  $FF/N$  tiende a variar en forma inversamente proporcional al flujo plasmático glomerular,  $Q_A$ , y en forma directamente proporcional al  $K_f$ , además de ser parcialmente determinado por  $C_A$  y  $\Delta P$ . Ha sido difícil valorar el efecto de variaciones selectivas de  $\Delta P$  sobre la  $FF/N$  y la  $FG/N$  en forma experimental, ya que las maniobras destinadas a alterar  $\Delta P$ , como la constricción de la aorta o la oclusión de las carótidas, también producen variaciones importantes en  $Q_A$ . Además,  $\Delta P$  está tan eficazmente autorregulado que es difícil producir cambios mayores a  $\pm 5$  mm Hg. Sin embargo, en experimentos en los que se ha logrado modificar significativamente  $\Delta P$ , sin cambiar  $K_f$ , su reducción produce disminución de la  $FG/N$  y su elevación, aumentos relativamente pequeños en la  $FG/N$ . Los cambios de  $\Delta P$  producen modificaciones menos profundas en la  $FG/N$  que cambios proporcionalmente similares de  $Q_A$ . Debido a lo anterior, y a la constancia de  $\Delta P$  bajo muchas situaciones experimentales, por su eficaz autorregulación, las variaciones de  $\Delta P$  tienen menor importancia en la determinación de la  $FG/N$  que los cambios en  $Q_A$ .

### C. Variaciones selectivas del coeficiente de ultrafiltración.

En los animales en equilibrio de presión de filtración, tanto la FF/N como la FG/N son independientes del Kf. Por lo tanto, mientras el Kf tenga un valor lo suficientemente grande para asegurar el equilibrio de presión de filtración, sus aumentos ulteriores no afectan los valores de la FF/N ni de la FG/N.

La reducción del Kf a un valor por abajo de 0.05 nl/(s.mm Hg) lleva a una situación de desequilibrio y hace que la FF/N disminuya. En ausencia de cambios compensadores en los otros determinantes de la ultrafiltración, la FG/N también disminuye en proporción a la reducción del Kf. Por lo tanto, es poco probable que la variación en el valor absoluto del Kf tenga una influencia importante en la FG/N excepto bajo condiciones en las cuales el Kf o sus determinantes (la permeabilidad hidráulica del capilar glomerular y el área glomerular) disminuyan en forma importante. Debido a que las reducciones del Kf que se han observado, siempre se acompañan de grandes cambios en uno o más de los otros determinantes de la ultrafiltración, no ha sido posible aislar experimentalmente la relación entre Kf y FG/N.

### D. Variaciones selectivas en la concentración de proteínas en la arteriola aferente.

Tanto la FF/N como la FG/N varían en forma proporcional a la concentración de proteínas en la arteriola aferente ( $C_A$ ). Conforme este último parámetro disminuye (y por tanto, disminuye también la presión oncótica aferente) la fuerza que se opone a la ultrafiltración se reduce, y en ausencia de otros cambios, el valor de la  $P_{UF}$  aumenta. Por lo tanto, el efecto de reducir la presión oncótica aferente, sobre la FF/N y la FG/N es similar al efecto de aumentar  $\Delta P$  selectivamente, ya que ambos cambios aumentan la  $P_{UF}$ .

En situaciones experimentales, la reducción de la concentración de proteínas en la arteriola aferente no produce la elevación esperada en la FG/N, ya que la reducción en la  $C_A$  se acompaña de disminución importante del Kf.

#### **IV. Autorregulación de la FG/N.**

El riñón tiene capacidad de conservar una constancia relativa del flujo sanguíneo a pesar de variaciones importantes de la presión arterial media por arriba de un valor aproximado de 80 mm Hg. Este fenómeno, denominado autorregulación del flujo sanguíneo, se conserva a pesar de que el riñón esté desnervado y, por lo tanto, parece ser una propiedad intrínseca de los vasos renales, independiente de elementos extrarrenales o humorales. Además del flujo sanguíneo, también la filtración glomerular está autorregulada.

Al disminuir la presión arterial media de 120 a 80 mm Hg, sólo se producen pequeños cambios en el flujo plasmático y en la filtración glomerular. Si se reduce la presión arterial media hasta 60 mm Hg se producen cambios más notables en ambos parámetros, lo que indica que la capacidad autorreguladora del riñón se atenúa con la hipotensión. Con valores de presión arterial media entre 80 y 120 mm Hg (denominados límites de autorregulación), la FF/N disminuye ligeramente, lo que indica que la disminución de la FG/N se debe casi por completo a la reducción proporcional del flujo plasmático; sin embargo, si el valor de la presión arterial media es inferior a 80 mm Hg, la disminución de la FG/N es proporcionalmente mayor que la del flujo plasmático renal. La presión oncótica en la arteriola aferente se conserva constante, independientemente de los cambios en la presión arterial media, pero la presión oncótica en la arteriola eferente disminuye proporcionalmente al gradiente de presión hidráulica transcápilar glomerular, por lo que el equilibrio de presión de filtración se conserva, no obstante las variaciones en la presión arterial media (16).

#### **V. Los determinantes de la filtración glomerular por nefrona en respuesta a las lesiones renales.**

Hay información disponible de estudios de micropunción en situaciones patológicas como la reducción de la masa renal funcionante (70), la nefritis por suero nefrotóxico (107), la

nefrotoxicidad por aminoglucósidos (16) y la nefrosis por aminonucleósido de puromicina (4,47,56) entre otros.

La administración de aminonucleósido de puromicina produce disminución de la FG/N de alrededor de 40%. El flujo plasmático por nefrona disminuye menos, en proporción, que la FG/N (más o menos 25%). El Kf disminuye notablemente. Por lo tanto, la importante reducción de la FG/N que se observa en la nefrosis producida por aminonucleósido de puromicina, parece deberse a los efectos acumulativos de las reducciones del Kf y el flujo plasmático por nefrona.



## **OBJETIVO:**

El propósito de este trabajo es estudiar algunos de los mecanismos fisiopatológicos que participan en la progresión del daño renal. Ciertos factores hemodinámicos, como la hiperfiltración y la hipertensión capilar glomerular parecen tener una participación importante en la progresión de las lesiones glomerulares agudas a la esclerosis glomerular tardía con pérdida de la función renal (26). Por otro lado, algunos estudios recientes han proporcionado evidencia que sugiere que otros factores como la hipertrofia glomerular (48, 49, 52, 102, 103, 142, 143), la hiperlipidemia (6, 37, 80, 81, 82) y la coagulopatía glomerular (85) también pueden ser importantes en la patogenia.

Desde hace tiempo se ha reconocido que la hipertensión sistémica es un factor importante que acelera la progresión de las nefropatías a glomeruloesclerosis e insuficiencia renal terminal (139). En modelos experimentales de nefropatía diabética (96) o glomerulonefritis (105), la adición de hipertensión sistémica facilita el daño glomerular. Sin embargo, los mecanismos que participan en este proceso no se han definido por completo (11). Desde hace relativamente poco tiempo, se ha reconocido que las lesiones glomerulares pueden deberse a cambios hemodinámicos locales, como hipertensión glomerular o hiperfiltración (70). La hipertensión sistémica puede amplificar estas alteraciones si se asocia con vasodilatación (42).

En la nefrosis por aminonucleósido de puromicina, la intensidad del daño glomerular depende de la cepa de rata que se use, y de la dosis, frecuencia y vía de administración del compuesto (3, 33, 63).

En la evolución de esta enfermedad pueden observarse dos fases. En las formas más graves la fase aguda inicial se caracteriza por proteinuria masiva que dura de 2 a 3 semanas, seguida de una fase crónica en la que se observa proteinuria persistente y esclerosis glomerular, de 18 a 20 semanas después (60). En contraste, en las formas más leves de la enfermedad, como

la que se produjo en el presente estudio, la fase aguda va seguida de recuperación completa y no hay progresión a la fase crónica.

Si se agrega hipertensión sistémica a esta forma leve de nefrosis, la progresión a esclerosis glomerular se facilita en gran medida. Este modelo nos permite evaluar algunos de los factores involucrados en el desarrollo de la lesión renal.

El objetivo de este estudio fue valorar la participación de la hipertensión capilar glomerular, la hipertrofia glomerular y la hiperlipidemia en la progresión de las lesiones glomerulares en ratas con nefrosis leve por aminonucleósido de puromicina con hipertensión sistémica sobreañadida.

## **MÉTODOS**

### **a) Producción del modelo experimental.**

Se estudiaron cuatro grupos de ratas Wistar machos con peso inicial entre 180 y 240 g. El grupo I se formó con 9 ratas normales usadas como testigo a las que se les administró 0.5 ml de solución salina isotónica por vía intravenosa; el grupo II estuvo formado por 10 ratas en las que se produjo hipertensión sistémica mediante la colocación de un clip en la arteria renal derecha y dos semanas más tarde recibieron un bolo único de 0.5 ml de solución salina; el grupo III estuvo formado por 8 ratas que recibieron una dosis única de 50 mg/kg de peso corporal de aminonucleósido de puromicina disuelto en 0.5 ml de solución salina isotónica por vía intravenosa; y el grupo IV se formó con 8 ratas con hipertensión producida por la colocación de un clip en la arteria renal derecha, y que dos semanas después recibieron una dosis única de aminonucleósido de puromicina por vía intravenosa a dosis de 50 mg/kg de peso corporal.

La hipertensión de Goldblatt se produjo mediante la colocación de un clip de plata con apertura de 0.2 mm en la arteria renal derecha, bajo anestesia ligera con éter. Todas las inyecciones intravenosas se administraron a través de la vena dorsal del pene de las ratas.

La presión arterial sistólica y la proteinuria de 24 horas se midieron cada 2 semanas.

Para medir la presión arterial sistólica con las ratas despiertas se usó un electroesfigmomanómetro con un manguillo neumático para la cola de la rata, un transductor neumático para el pulso y una jaula térmica para inmovilización (Narco Biosystems, Houston TX) (54). Para la recolección de orina de 24 horas, se colocó a los animales en jaulas metabólicas con libre acceso a comida y agua. A las semanas 0, 8 y 18 se registró el peso de las ratas y se obtuvo muestra de sangre de mezcla arteriovenosa mediante corte de la punta de la cola, después de ayuno durante la noche anterior para medición de hematócrito, colesterol y triglicéridos en plasma.

#### **b) Estudios de micropunción.**

Después de 18 semanas de evolución, se hicieron estudios de micropunción en el riñón izquierdo (sin clip). Las ratas se anestesiaron con pentobarbital sódico (30 mg/kg de peso corporal i.p.); se instilaron en el peritoneo dosis suplementarias adicionales (5 a 10 mg/kg) conforme se requirieron durante el experimento. La preparación quirúrgica se hizo de la siguiente forma. Se colocó al animal en una mesa termorregulada y la temperatura rectal se conservó alrededor de 37° C. Se hizo traqueostomía y se intubó la tráquea con catéter de polietileno PE 120. Se cateterizaron ambas venas yugulares y ambas arterias femorales con catéteres de polietileno PE 50. Ambos ureteros se cateterizaron con catéteres de polietileno PE 10. Se expuso el riñón izquierdo a través de una incisión en la línea media y se colocó en una cápsula de lucita después de disecar el tejido adiposo perirrenal. El espacio entre la cápsula y el riñón se rellenó con un elastómero (Xantoprén, Bayer) y la superficie del riñón se cubrió con solución de Ringer tibial. Uno de los catéteres femorales se usó para obtener muestras de sangre periódicamente y el otro para monitorear en forma continua la tensión arterial media (TAM), mediante un transductor de presión (modelo P23db, Statham Instruments, Gould Division Inc. Hato Rey, Puerto Rico), registrada en un polígrafo (Grass Instruments, Quincy MA). Las muestras de sangre se repusieron en forma simultánea con el mismo volumen de sangre obtenida de una rata de la misma camada, exsanguinada por la mañana del día del experimento.

Las ratas se conservaron en condiciones de euvolemia mediante la administración intravenosa de plasma isooncótico de rata a dosis de 10 ml/kg de peso corporal en una hora. Después de la administración del plasma, las ratas recibieron polifruetosán (Inutest, Laevosan-Gesellschaft, Viena) al 5% en solución de Ringer por vía intravenosa a razón de 2.2 ml/h, desde una hora antes y durante todo el experimento de micropunción. Después del periodo de equilibrio de 60 minutos, se midió la presión hidrostática en las arteriolas eferentes y túbulos superficiales bajo condiciones de

flujo libre y bloqueo de flujo con un aparato "servo-null" (Servonulling Pressure System model 4A, Instrumentation for Physiology and Medicine Inc., San Diego CA) con pipetas de cristal con punta de 5 a 7  $\mu\text{m}$ . Para medir la presión intratubular con bloqueo de flujo se interrumpió el flujo del líquido tubular mediante una columna de aceite mineral pesado coloreado con negro de Sudán, que se inyectó en la luz tubular a través de una pipeta de cristal con punta de 9 a 11  $\mu\text{m}$  y se conservó en posición estable por un mínimo de 30 segundos; la pipeta del "servo null" se colocó en el segmento más proximal del túbulo bloqueado. La presión medida de esta manera se registró en un polígrafo.

La concentración de proteínas en la arteriola eferente se midió en muestras de sangre obtenida por punción directa de por lo menos tres arteriolas eferentes (vasos "estrella") con pipetas con punta de 13 a 15  $\mu\text{m}$ . La concentración de proteínas en la arteriola aferente se midió en muestras de sangre arterial obtenidas del catéter de la arteria femoral. Para calcular la filtración glomerular por nefrona, se obtuvo una recolección cronometrada de líquido tubular, mediante aspiración suave durante 3 minutos después de colocar un bloqueo con aceite de la manera ya descrita, en seis túbulos superficiales de cada animal. Se obtuvieron muestras cronometradas de orina de cada uretero para medir la producción de orina por minuto y la concentración de inulina. Al inicio y al final de cada recolección de orina se obtuvieron muestras de sangre arterial para medir la concentración de inulina y el hematócrito.

Después de terminar los estudios de micropunción, se ligó la aorta por arriba de la emergencia de las arterias renales. Ambos riñones se lavaron con amortiguador de fosfatos 0.13 M (pH 7.4) por uno o dos minutos para eliminar la sangre de los vasos renales. Después del lavado, se cortó una pequeña rebanada del polo inferior del riñón izquierdo. El fragmento de tejido fresco se pesó y se congeló con nitrógeno líquido. Después de esto, los riñones se fijaron mediante la administración intraarterial de una mezcla de glutaraldehído al 2.5% y de formaldehído al 4% en solución

amortiguadora de fosfatos 0.13 M (pH 7.4) inyectado a la misma presión que el animal tenía cuando estaba vivo. Uno de los catéteres de las arterias femorales se usó para inyectar el fijador y el otro para monitorear en forma continua la presión de la inyección. Posteriormente se extrajeron los riñones, se les asignó un número clave y se enviaron para estudios morfológicos. Los patólogos que hicieron los análisis morfológicos y morfométricos desconocían a que grupo pertenecía cada animal.

**c) Estudios morfológicos.**

El tejido fresco congelado se cortó en secciones de 5  $\mu\text{m}$  y se tiñó con rojo oleoso para revelar la presencia de depósitos de lípidos en los glomérulos. La mitad de cada riñón se procesó para estudios de microscopía electrónica de transmisión de la manera siguiente. Las piezas se enjuagaron en solución amortiguadora y se postfijaron en tetraóxido de osmio al 1%, se deshidrataron y se incluyeron en epon 812. Se hicieron cortes delgados de 0.5  $\mu\text{m}$  de espesor y se tiñeron con azul de toluidina al 5% en bórax acuoso. Se hicieron cortes ultradelgados de 90 a 120 nm de espesor y se tiñeron con acetato de uranilo al 3.5% y citrato de plomo y se examinaron en un microscopio electrónico Zeiss EM 10 a 60 kV. La otra mitad del riñón se procesó para microscopía de luz. Las piezas se incluyeron en parafina. Se hicieron cortes de 3  $\mu\text{m}$  de espesor y se tiñeron con hematoxilina-eosina, ácido periódico de Schiff y tricrómico de Masson.

Se examinaron 300 glomérulos de cada riñón con microscopía de luz. Se contó el número de glomérulos con proliferación mesangial (más de 5 células por lóbulo glomerular), expansión de la matriz mesangial, esclerosis segmentaria (área solidificada causada por una combinación de colapso de los capilares y producción excesiva de matriz o sustancia mesangial), esclerosis global y dilatación de asas. Se midió el área de sección de los glomérulos en 50 perfiles glomerulares por riñón, por duplicado, con dos métodos diferentes. Primero con un ocular de rejilla, mediante la técnica de conteo de puntos y después con un analizador granulométrico (Carl Zeiss) (138).

#### d) Métodos analíticos.

Las concentraciones de inulina en muestras de sangre y orina se midieron con la técnica de antrona de Davidson y col. (30). El volumen de las colecciones de líquido tubular se estimó con la longitud de la columna de líquido dentro de un tubo capilar de cuarzo de diámetro interno constante. La concentración de inulina en el líquido tubular se midió por triplicado por el método de fluorescencia de Vureck y Pegram (135). La concentración de proteínas se midió en plasma de sangre tomada de arteriolas eferentes y de arterias femorales, por duplicado, mediante el método fluorométrico de Viets et al. (134). Como control externo, también se midió la concentración de proteínas en el plasma de la sangre obtenida de las arterias femorales con un refractómetro.

La concentración de proteínas en la orina se midió por precipitación con ácido sulfosalicílico al 3%. La turbidez se determinó mediante medición de la absorbencia a una longitud de onda de 550 nm con un espectrofotómetro Beckman. El colesterol y los triglicéridos plasmáticos se midieron con técnicas enzimáticas colorimétricas disponibles comercialmente de Beckman.

#### e) Cálculos.

La filtración glomerular por nefrona se calculó con la siguiente fórmula:

$$FG/N = (LT/P)_{in} \times VF$$

en donde  $(LT/P)_{in}$  es el cociente de la concentración de inulina en el líquido tubular entre la concentración de inulina en el plasma (cociente de la concentración transtubular de inulina) y VF es la velocidad de flujo del líquido tubular.

La presión hidráulica del capilar glomerular ( $P_{CG}$ ) se estimó con la fórmula:

$$P_{CG} = PBF + \Pi A$$

en donde PBF se refiere a presión con bloqueo de flujo y  $\Pi A$  a la

presión oncótica en la arteriola aferente.

El gradiente de presión hidrostática en el capilar glomerular ( $\Delta P$ ), la fracción de filtración por nefrona (FF/N), el flujo plasmático por nefrona (FP/N), el flujo sanguíneo por nefrona (FS/N), la resistencia arteriolar aferente ( $R_A$ ) y la resistencia arteriolar eferente ( $R_E$ ) se calcularon con las ecuaciones apropiadas (16).

La presión oncótica ( $\Pi$ ) se calculó a partir de la concentración de proteínas, con la ecuación de Landis y Pappenheimer (89).

**f) Análisis estadístico.**

Las diferencias entre grupos se valoraron con análisis de varianza de una vía. Cuando se obtuvieron valores de F significativos ( $p < 0.05$ ), los grupos diferentes se buscaron con la prueba *post hoc* de la diferencia mínima significativa de Fisher (128).



## RESULTADOS.

La figura 1 muestra la evolución de los cambios de la tensión arterial sistólica. Los valores basales no mostraron diferencias entre los cuatro grupos de ratas (I  $121.2 \pm 1.3$  mm Hg; II  $117.5 \pm 4.9$  mm Hg; III  $120.0 \pm 2.3$  mm Hg; IV  $122.5 \pm 1.6$  mm Hg). Las ratas del grupo I permanecieron normotensas durante las 18 semanas de observación. Después de la administración de aminonucleósido de puromicina a las ratas del grupo III se produjo una elevación transitoria de la tensión arterial sistólica en la semana 2, que disminuyó posteriormente a valores normales en forma espontánea. La colocación del clip en la arteria renal derecha en los animales de los grupos II y IV produjo elevación de la tensión arterial sistólica después de dos semanas. En las ratas de ambos grupos, la tensión arterial sistólica permaneció elevada durante las 18 semanas de evolución. Después de 18 semanas de evolución, la presión arterial sistólica fue de  $131.7 \pm 5.0$  mm Hg en el grupo I,  $155.3 \pm 10.0$  mm Hg en el grupo II ( $p < 0.01$  vs I),  $131.7 \pm 5.8$  mm Hg en el grupo III y  $168.0 \pm 11.2$  mm Hg en el grupo IV ( $p < 0.01$  vs I). En la figura 2 se muestra la proteinuria de 24 horas durante las 18 semanas del estudio. La proteinuria en las ratas del grupo I fue menor de 10 mg/24 h durante toda la evolución. Los animales del grupo II mostraron una elevación discreta y no significativa de la proteinuria, estable durante las 18 semanas de evolución. La administración de aminonucleósido de puromicina en las ratas del grupo III produjo un aumento significativo de la proteinuria que duró dos semanas. Para la semana 4, la proteinuria se había normalizado y permaneció en valores no diferentes de los del grupo control durante el resto de la evolución. En contraste, las ratas del grupo IV presentaron proteinuria masiva durante las primeras dos semanas después de la administración de aminonucleósido de puromicina, que disminuyó discretamente después de la semana 8 y permaneció de 4 a 5 veces más alta que en el grupo control. Al final de la evolución, la proteinuria era de  $8.0 \pm 0.4$  mg/24 h en el grupo I,  $13.3 \pm 2.8$  mg/24 h en el grupo II,  $6.9 \pm 1.1$  mg/24 h en

el grupo III y  $40.6 \pm 5.7$  mg/24 h en el grupo IV ( $p < 0.05$  vs I). El cuadro 1 muestra los valores del peso corporal, el colesterol sérico, los triglicéridos séricos y el hematócrito a las semanas 0, 8 y 18. No hubo diferencias significativas entre grupos en ninguno de estos parámetros, en ninguno de los tiempos en que se midieron. El cuadro 2 muestra los resultados obtenidos durante los estudios de micropunción. La presión arterial media, medida con catéter intraarterial directo, durante el experimento de micropunción, fue normal en los grupos I y III, pero estuvo significativamente elevada en el grupo II ( $157.9 \pm 4.2$  mm Hg,  $p < 0.01$  vs I), y la presión capilar glomerular aumentó 7 mm Hg ( $p < 0.01$  vs I); ésto se debió a un aumento insuficiente de la resistencia aferente, de sólo 28%. Este cambio no alcanzó significación estadística (Fig. 3). La filtración glomerular por nefrona y el coeficiente de ultrafiltración permanecieron sin cambios. El análisis histológico reveló solamente cambios intersticiales menores, sin alteraciones en las estructuras glomerulares (cuadro 3).

En las ratas que recibieron aminonucleósido de puromicina (grupo III), los estudios de micropunción demostraron una disminución notable de la filtración glomerular por nefrona ( $p < 0.05$ ) en comparación con el grupo testigo. Esta disminución de la filtración glomerular por nefrona se debió por completo a una reducción concomitante del coeficiente de ultrafiltración (Kf), ya que los demás determinantes de la filtración glomerular: el flujo plasmático glomerular y la presión capilar glomerular permanecieron sin cambios. La tensión arterial media durante la micropunción no fue diferente de la de los animales del grupo testigo (Fig. 4). No se observaron cambios histológicos glomerulares en la microscopía de luz, pero la microscopía electrónica reveló áreas focales de fusión de podocitos.

La producción de hipertensión sistémica en las ratas con síndrome nefrótico por aminonucleósido de puromicina (grupo IV), elevó la tensión arterial a cifras similares a las que se obtuvieron en el grupo de animales hipertensos (grupo II). Sin embargo, los cambios de la hemodinámica glomerular fueron mucho

mayores. Hubo un aumento notable de la presión capilar glomerular a valores de 63.2 mm Hg, cifra 8 mm Hg mayor que la de los animales controles hipertensos del grupo II. Esta elevación desproporcionada de la presión capilar glomerular se debió a la falta de respuesta de los vasos preglomerulares a los cambios en la presión arterial que condicionó que la resistencia aferente no aumentara. A pesar de que hubo hipertensión glomerular, la filtración glomerular por nefrona permaneció dentro de los límites normales debido a la disminución concomitante en el coeficiente de ultrafiltración (Kf). Además, se presentaron cambios estructurales notables en los glomérulos de las ratas de este grupo, como glomerulosclerosis segmentaria y global (Fig. 5), aumento del área glomerular ( $p < 0.05$  vs grupo testigo) y daño intersticial (cuadro III). La microscopía electrónica de transmisión mostró áreas focales de fusión de podocitos y proliferación de las células mesangiales, con producción de un material parecido al de la membrana basal (Fig. 6).

Las preparaciones en fresco congeladas teñidas con rojo oleoso no mostraron depósitos de lípidos en los glomérulos o túbulos en ninguno de los grupos.

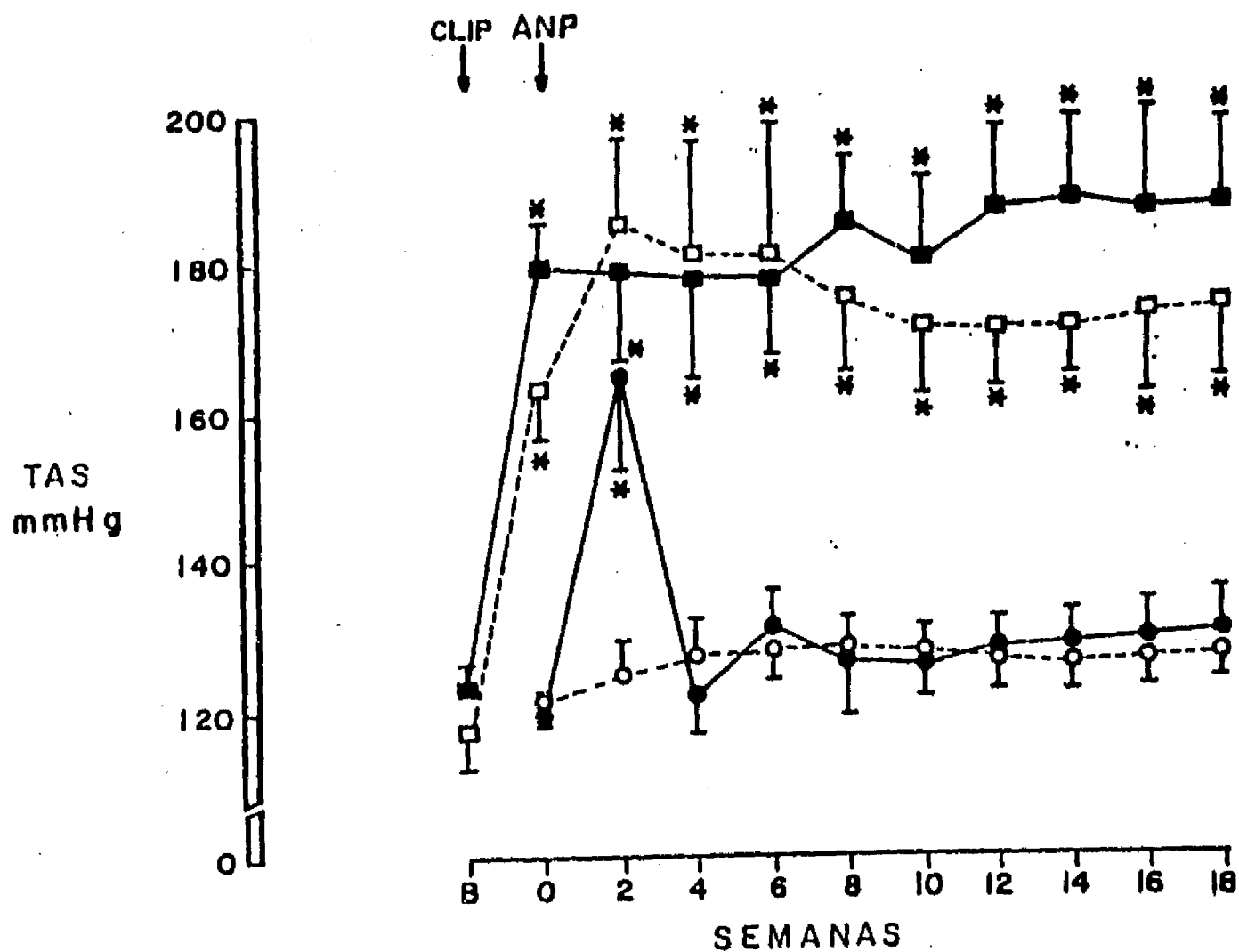


Figura 1. Tensión arterial sistólica (TAS) en ratas de los grupos: grupo I, Testigo (o); grupo II, hipertensión (□); grupo III, aminonucleósido de puromicina(●); y grupo IV, hipertensión + aminonucleósido de puromicina (■), en 18 semanas de evolución. Los valores de la TAS en las ratas del grupo III fueron similares a los del grupo testigo, excepto en la 2ª semana, en la cual hubo hipertensión transitoria. En los grupos II y IV la TAS aumentó después de poner un clip en la arteria renal derecha y permaneció elevada durante la evolución (\*=P<0.05 vs testigo).

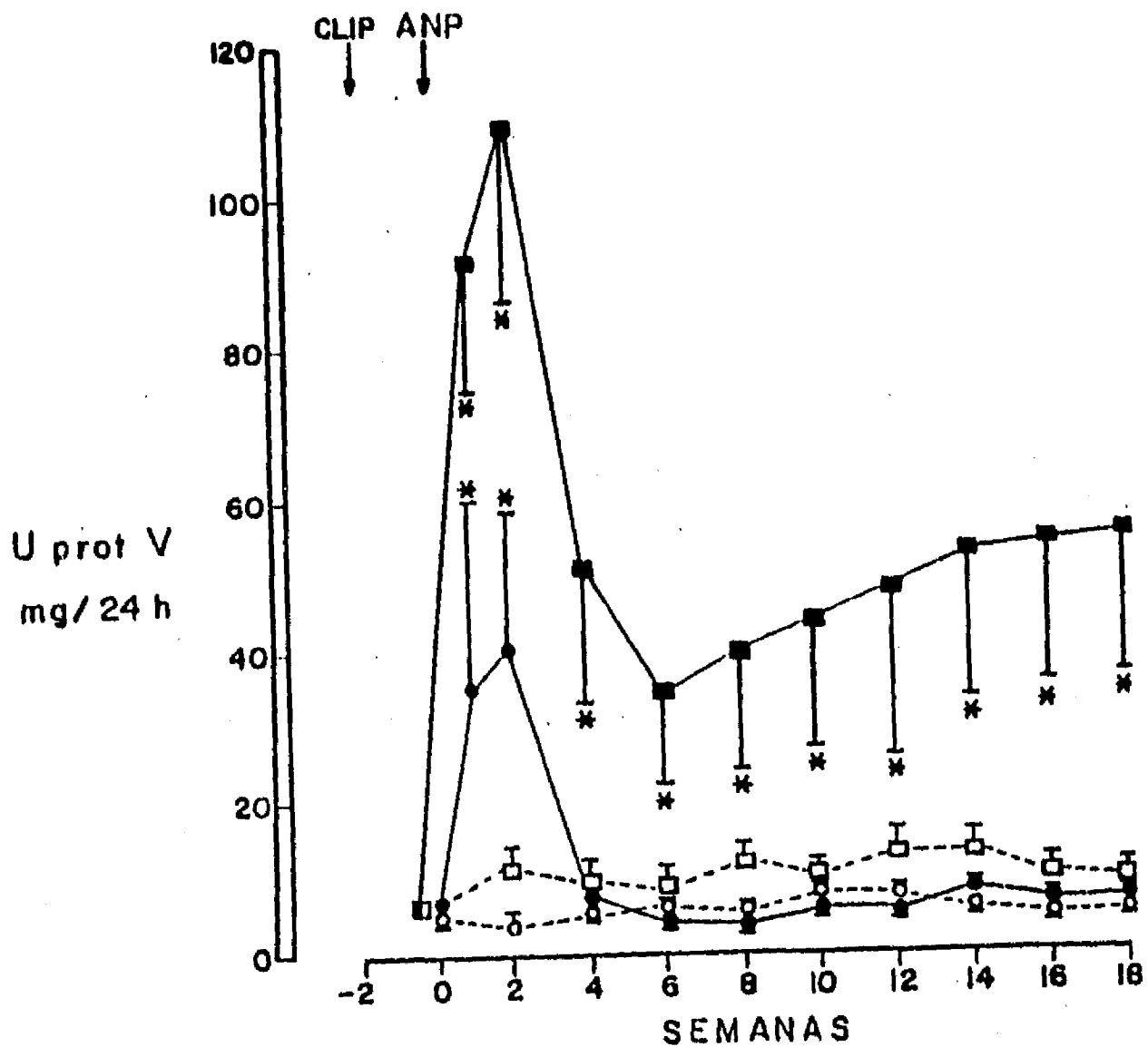


Figura 2. Proteinuria de 24 horas (U prot V) en ratas del grupo I, testigo (o); grupo II, hipertensión (□); grupo III, aminonucleósido de puromicina (●) y grupo IV, aminonucleósido de puromicina + hipertensión (■) durante 28 semanas. Las ratas del grupo III desarrollaron proteinuria transitoria durante las primeras dos semanas, pero ésta se normalizó después. Las ratas del grupo IV presentaron proteinuria significativa durante el estudio (\*= $P < 0.05$  vs testigo). Las ratas del grupo II no presentaron proteinuria.

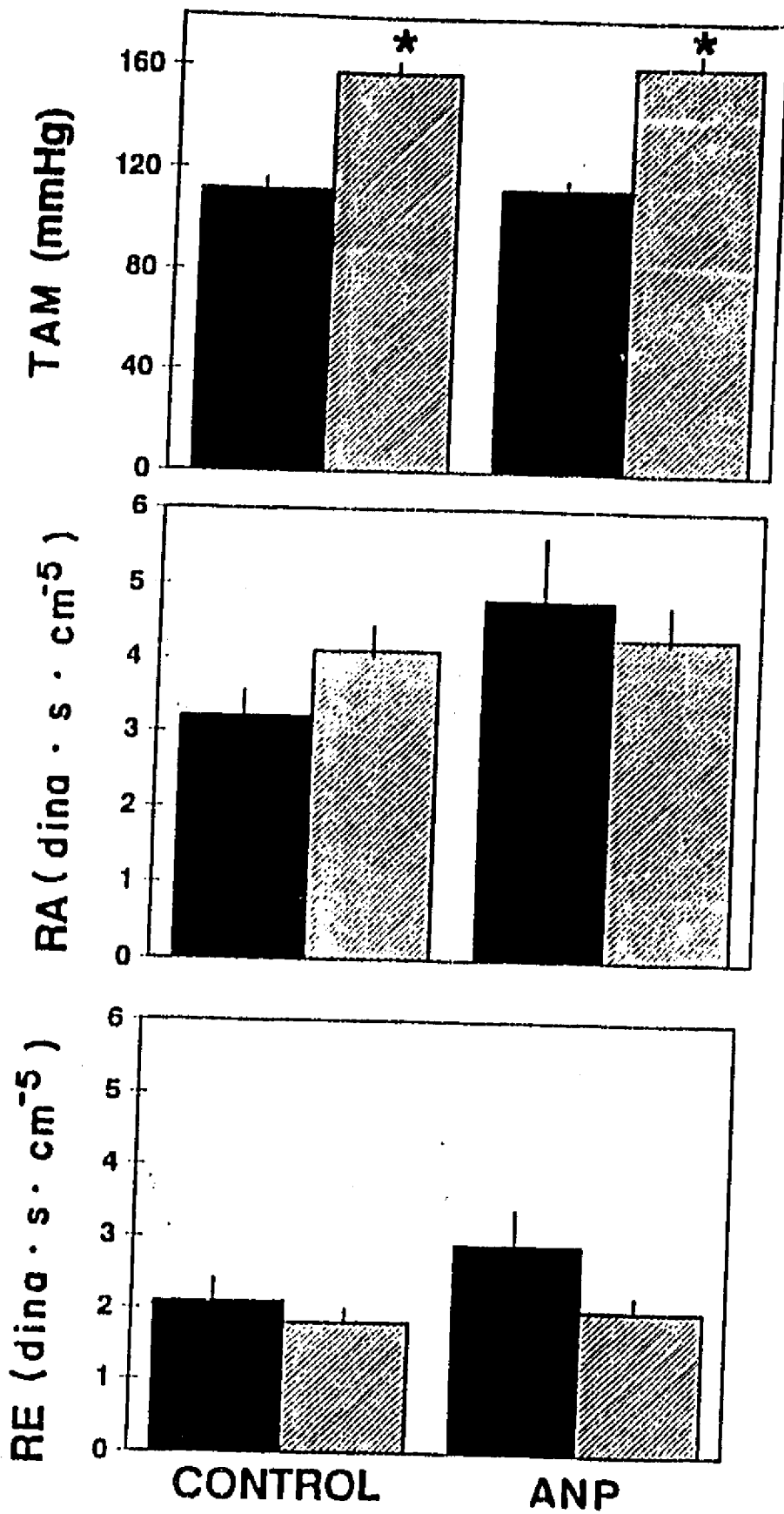


Figura 3. Tensión arterial media (TAM), resistencia aferente (RA) y resistencia eferente (RE) en ratas del grupo I, testigo (control NT), grupo II (control HT), grupo III (ANP NT) y grupo IV (ANP HT). Las resistencias aferente y eferente no aumentaron proporcionalmente a elevación en la tensión arterial en los grupos II y IV.

\* = P<0.05 vs control NT.

\* = p<0.05 vs control

NT ■  
HT ▨

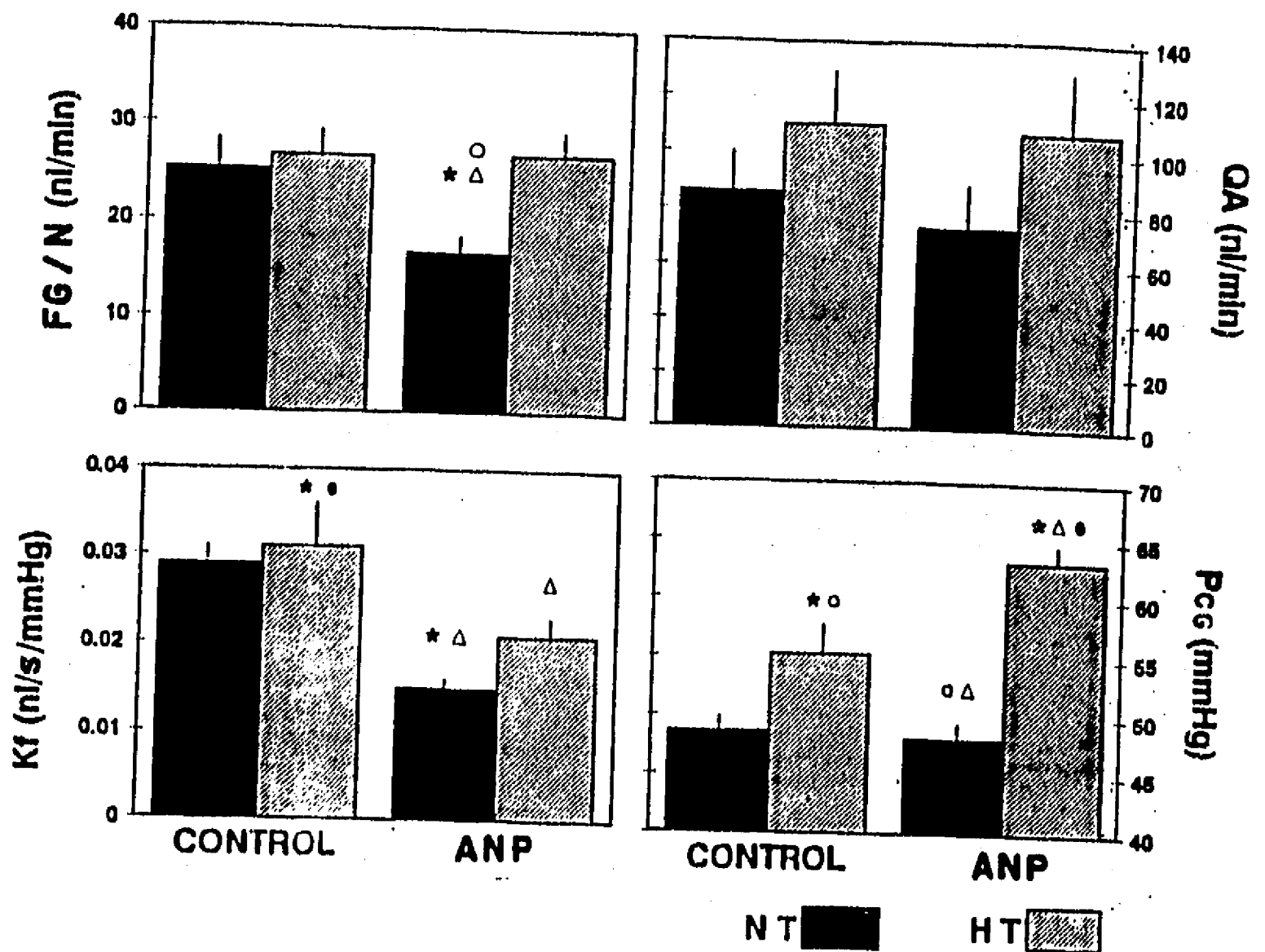
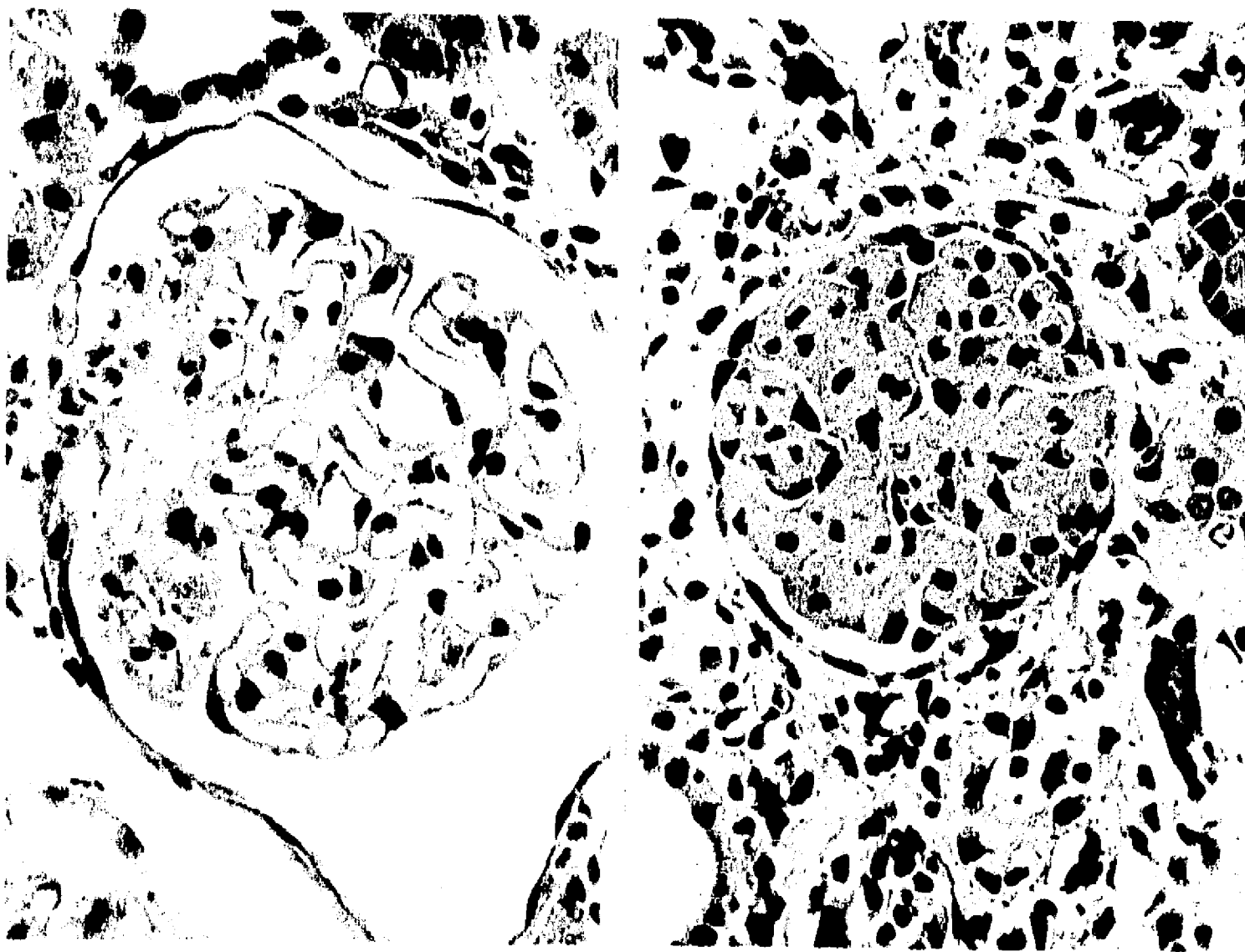


Figura 4. Filtración glomerular por nefrona (FG/N), flujo plasmático glomerular (QA), coeficiente de ultrafiltración (Kf) y presión capilar glomerular (P<sub>CG</sub>) en ratas del grupo I (control NT), grupo II (control HT), grupo III (ANP NT) y grupo IV (ANP HT). La FG/N disminuyó significativamente en el grupo III debido a reducción del Kf. En las ratas del grupo IV la FG/N fue similar a la del grupo II, a pesar de una disminución del Kf, debido a la elevación de la P<sub>CG</sub>.

\* = P<0.05 vs grupo I, Δ = 0.05 vs grupo II,

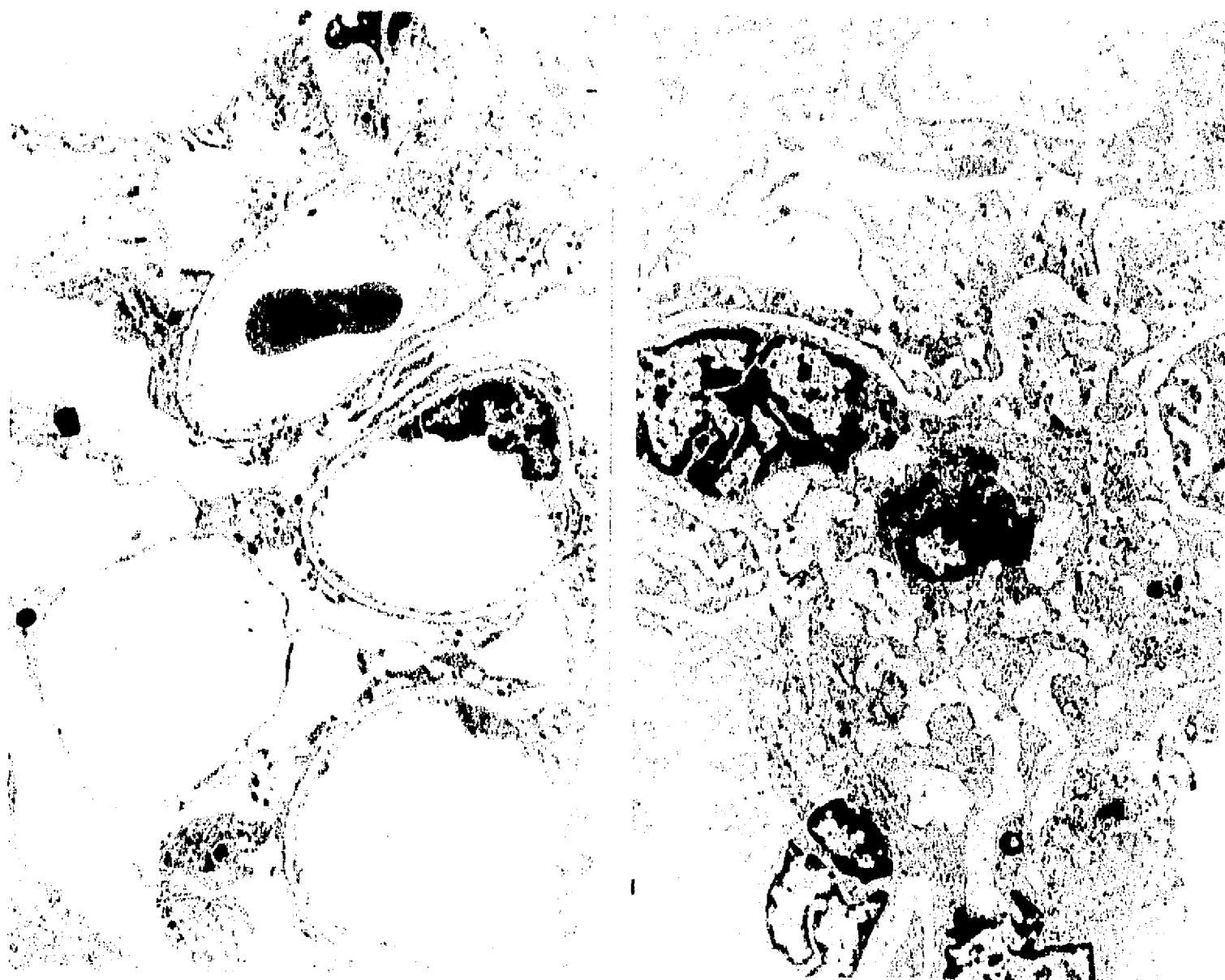
● = P<0.05 vs grupo III, ○ = P<0.05 vs grupo IV.



**Figura 5.** Imágenes histológicas en glomerulos de ratas del grupo IV (nefrosis por aminonucleósido de puromicina con hipertensión arterial sobreañadida).

**Izquierda:** Esclerosis segmentaria; **Derecha:** Esclerosis global (glomerulo completamente esclerosado). Cortes teñidos con hematoxilina y eosina (550 x).





**Figura 6.** Micrografías electrónicas de transmisión en ratas del grupo IV (nefrosis por aminonucleósido de puromicina con hipertensión arterial sobreañadida)

Izquierda: Capilares glomerulares con fusión focal de pedicelos de los podocitos (2500 x). Derecha: Celula mesangial que sintetiza un material similar a la membrana basal (3200 x). Cortes teñidos con acetato de uranilo y citrato de plomo.

**Cuadro 1. Colesterol y triglicéridos séricos, hematócrito y peso corporal de los cuatro grupos de ratas a las semanas 0, 8 y 18.**

Sema- nas.	I			II			III			IV		
	0	8	18	0	8	18	0	8	18	0	8	18
Col. (mg%)	71 ± 3	69 ± 5	67 ± 4	85 ± 4	77 ± 4	65 ± 8	64 ± 3	66 ± 3	69 ± 9	84 ± 3	84 ± 3	68 ± 7
TG (mg%)	138 ± 9	131 ± 17	90 ± 21	112 ± 8	143 ± 11	090 ± 18	109 ± 15	128 ± 10	62 ± 15	122 ± 7	129 ± 8	108 ± 37
Htc (%)	53 ± 3	53 ± 3	50 ± 4	54 ± 3	53 ± 5	52 ± 3	53 ± 2	52 ± 4	48 ± 3	55 ± 3	54 ± 3	53 ± 3
PC (g)	211 ± 40	329 ± 46	358 ± 52	233 ± 34	324 ± 62	359 ± 31	187 ± 37	307 ± 33	400 ± 56	218 ± 27	303 ± 49	339 ± 18

No hubo diferencias estadísticamente significativas entre los grupos en ninguno de los tiempos estudiados.

**Cuadro 2.** Hemodinámica glomerular después de 18 semanas de evolución en los cuatro grupos de ratas: Grupo I, testigo; Grupo II, hipertensión; Grupo III, aminonucleósido de puromicina y Grupo IV, hipertensión + aminonucleósido de puromicina.

Grupo	I	II	III	IV
PC g	367.9 ± 18.8	339.3 ± 31.8	386.0 ± 14.2	356.3 ± 34.0
Htc	50.2 ± 1.3	52.0 ± 1.8	48.8 ± 0.9	50.8 ± 1.9
TAM mmHg	111.9 ± 2.9 <sup>f,h</sup>	157.9 ± 4.2 <sup>e,g</sup>	112.8 ± 2.6 <sup>f,h</sup>	161.7 ± 3.4 <sup>e,g</sup>
PBF mmHg	32.8 ± 1.1 <sup>b,h</sup>	37.4 ± 1.9 <sup>a,c,h</sup>	32.1 ± 1.0 <sup>b,h</sup>	43.0 ± 1.2 <sup>e,f,g</sup>
P <sub>CG</sub> mmHg	48.7 ± 1.0 <sup>f,h</sup>	55.3 ± 2.1 <sup>e,g,h</sup>	48.2 ± 1.2 <sup>f,h</sup>	63.2 ± 1.3 <sup>e,f,g</sup>
PFL mmHg	12.7 ± 0.8	14.5 ± 1.5	12.4 ± 0.3	15.4 ± 1.3
ΔP mmHg	36.0 ± 0.8	40.7 ± 1.6 <sup>a,c,h</sup>	35.8 ± 1.3 <sup>b,h</sup>	47.7 ± 1.6 <sup>e,f,g</sup>
PHP mmHg	12.9 ± 1.0 <sup>b</sup>	16.6 ± 1.6 <sup>a,c</sup>	12.1 ± 0.5 <sup>b,d</sup>	16.3 ± 1.1 <sup>c</sup>
C <sub>A</sub> g/100 ml	5.1 ± 0.1 <sup>h</sup>	5.4 ± 0.2	5.1 ± 0.2 <sup>h</sup>	5.8 ± 0.2 <sup>e,g</sup>
C <sub>E</sub> g/100 ml	7.3 ± 0.1	7.3 ± 0.2	6.9 ± 0.3 <sup>h</sup>	7.8 ± 0.1 <sup>g</sup>
Π <sub>A</sub> mmHg	15.9 ± 0.5	17.8 ± 0.8	16.1 ± 1.0 <sup>h</sup>	19.5 ± 0.9 <sup>e,g</sup>
Π <sub>E</sub> mmHg	27.6 ± 0.7	27.8 ± 2.2	25.7 ± 1.4 <sup>h</sup>	30.8 ± 0.8 <sup>a,g</sup>
FF/N	0.30 ± 0.02	0.26 ± 0.02	0.27 ± 0.03	0.26 ± 0.02
FG/N nl/min	25.3 ± 2.9 <sup>c</sup>	26.8 ± 2.5 <sup>g</sup>	16.9 ± 1.7 <sup>a,f,h</sup>	27.0 ± 2.4 <sup>g</sup>
FP/N nl/min	86.3 ± 9.8	110.3 ± 14.0	74.1 ± 15.0	107.8 ± 10.7
R <sub>A</sub> dina.s.cm <sup>-5</sup>	3.2 ± 0.4	4.1 ± 0.4	4.8 ± 0.9	4.3 ± 0.5
R <sub>E</sub> dina.s.cm <sup>-5</sup>	2.1 ± 0.3	1.8 ± 0.2	2.9 ± 0.5	2.0 ± 0.2
Kf nl.s.mmHg	0.029 ± 0.002 <sup>g</sup>	0.031 ± 0.005 <sup>d,g</sup>	0.015 ± 0.001 <sup>a,f</sup>	0.021 ± 0.002 <sup>b</sup>

a=p<0.05 Vs testigo  
e=p<0.01 Vs testigo

b=p<0.05 Vs II  
f=p<0.01 Vs II

c=p<0.05 Vs III  
g=p<0.01 Vs III

d=p<0.05 Vs IV  
h=p<0.01 Vs IV

PC= peso corporal; Htc= hematócrito; TAM= tensión arterial media, PBF= presión con bloqueo de flujo; P<sub>CG</sub>= presión capilar glomerular; PFL= presión con flujo libre, ΔP= gradiente de presión hidráulica transcápilar glomerular; PHP= presión hidráulica pericapilar; C<sub>A</sub> y C<sub>E</sub>= concentración de proteínas en arteriolas aferente y eferente; Π<sub>A</sub> y Π<sub>E</sub>= presión oncótica aferente y eferente, FF/N= fracción de filtración por nefrona, FG/N= filtración glomerular por nefrona, FP/N= flujo plasmático por nefrona, R<sub>A</sub> y R<sub>E</sub>= resistencia aferente y eferente; Kf= coeficiente de ultrafiltración.

**Cuadro 3.** Cambios histológicos en el riñón izquierdo (sin clip) en los cuatro grupos de ratas estudiados. Grupo I, testigo; Grupo II, hipertensión; Grupo III, aminonucleósido de puromicina; Grupo IV, hipertensión + aminonucleósido de puromicina.

Grupo	I	II	III	IV
Peso renal (g)	1.4 ± 0.1	1.9 ± 0.2	1.4 ± 0.1	2.1 ± 0.2*
Dilatación de - asas (%)	0	1.7 ± 1.6	2.6 ± 1.4	0.7 ± 0.5
Proliferación - mesangial (%)	1.2 ± 0.4	1.9 ± 1.1	1.3 ± 0.6	2.5 ± 1.0
Expansión de la matriz mesangial (%)	0.6 ± 0.3	0.7 ± 0.5	1.1 ± 0.4	1.0 ± 0.6
Esclerosis segmenta- ria (%)	0.4 ± 0.2	0.1 ± 0.1	0.2 ± 0.1	5.1 ± 2.4*
Esclerosis global (%)	0	0	0	3.0 ± 2.2
Area glomerular (10 <sup>-3</sup> x mm <sup>2</sup> )	8.8 ± 1.1	10.9 ± 1.1	9.6 ± 1.1	14.5 ± 1.1*
Fibrosis e inflama- ción intersticial	0	+	0	+++
Atrofia y dilatación tubular.	+	+++	++	+++*

\* p < 0.05 vs testigo.

## **DISCUSION.**

En el momento actual hay un interés considerable en el estudio de los mecanismos subyacentes en la progresión del daño renal. Entre los factores a los que se ha atribuido un papel patogénico en la progresión de las lesiones renales destacan la proteinuria (13,14,25,65,78,100,117,129,129,144), el depósito de macromoléculas en el mesangio (15,20), la coagulopatía glomerular (31,36), la hiperlipidemia (6,19,36,74,80,81), la hipertensión capilar glomerular (2,4) y la hipertrofia glomerular (142,143).

En vista de que en estudios previos en nuestro laboratorio se había observado que la hipertensión de Goldblatt produce aumento de la presión capilar glomerular en el riñón sin clip (67); que se ha descrito que al agregar hipertensión de Goldblatt a diversos modelos de nefropatías se consigue aumentar el daño renal (22,105), y que en el modelo de síndrome nefrótico por aminonucleósido de puromicina se han descrito progresión a glomeruloesclerosis focal y segmentaria (60) y trastornos en el metabolismo de los lípidos (58,112), decidimos usar este modelo para estudiar la participación de los factores mencionados en la progresión del daño renal.

La hipertensión sistémica es muy importante como factor de riesgo para el deterioro progresivo de la función renal en pacientes con nefropatías (139). Se ha pensado que la elevación de la presión arterial sistémica puede ser tanto la causa como la consecuencia de las lesiones renales durante la evolución de una nefropatía (11). Además, la frecuencia de hipertensión en pacientes con nefropatías se acerca al 90% (23). La asociación entre elevación de la tensión arterial y la progresión a lesiones renales se ha demostrado en estudios experimentales en los cuales la adición de hipertensión a diversas formas de enfermedad renal acelera el desarrollo de glomeruloesclerosis (42,70,96,105). En la mayor parte de los estudios publicados, no se ha hecho correlación entre los cambios morfológicos y las mediciones de la hemodinámica renal.

Para caracterizar los mecanismos mediante los cuales la hipertensión sistémica deteriora la función renal cuando se asocia a una nefropatía, se agregó hipertensión sistémica a la forma leve,

no progresiva, de nefrosis por aminonucleósido de puromicina (53,112). En estudios previos, la administración de la misma dosis de aminonucleósido de puromicina que se usó en estas ratas ha bastado para causar daño renal con progresión a esclerosis glomerular (33). En las ratas del grupo III de este estudio, que sólo recibieron aminonucleósido de puromicina, se produjo una enfermedad renal leve que remitió espontáneamente. En estos animales la proteinuria al final de la evolución fue similar a la de las ratas del grupo testigo y el estudio microscópico de los riñones no reveló esclerosis glomerular. Las únicas alteraciones que persistieron al final de la evolución de 18 semanas fueron disminución de la filtración glomerular por nefrona y del Kf. Estas alteraciones hemodinámicas se asociaron con cambios histológicos leves en la microscopía de luz y con fusión de los podocitos en la microscopía electrónica. Las razones por las que las ratas que sólo recibieron aminonucleósido de puromicina en este estudio no evolucionaron a glomeruloesclerosis focal y segmentaria no están claras, pero hubo varias diferencias metodológicas. La vía de administración en el trabajo de referencia (33) fue la vena yugular y en el presente trabajo fue una vena periférica (vena dorsal del pene). En el trabajo referido (33) la dosis se diluyó en 3 ml de solución salina y se administró en 5 minutos con una bomba para administración continua, en tanto que en el presente estudio, la sustancia se disolvió en 0.5 ml de solución salina y se inyectó rápidamente en forma de bolo. La cepa de las ratas que se usaron también fue diferente. En el trabajo citado (33) se usaron ratas Sprague Dawley, en tanto que en este trabajo se usaron ratas Wistar. Las distintas cepas de animales responden diferente a la administración de aminonucleósido de puromicina (63). Anderson refiere que las ratas Sprague Dawley son más sensibles al aminonucleósido de puromicina (4), pero fue capaz de producir nefropatía crónica en ratas Munich Wistar con el uso de un protocolo similar al de Diamond y Karnovsky (4).

Independientemente de la razón a la que se deba la diferencia en la respuesta de estos animales respecto a la informada en la

literatura, el hecho de que se haya producido una nefropatía tan leve y autolimitada, fue muy ventajoso para los fines del presente estudio, ya que permitió diseccionar con mayor nitidez el efecto de la hipertensión sobreañadida.

La administración de aminonucleósido de puromicina causa diversos trastornos en el metabolismo de los lípidos (58,80,112), muy similares a los que ocurren en el síndrome nefrótico del ser humano (8). En algunos estudios se ha presentado evidencia de que la hiperlipidemia puede tener cierta participación en la patogenia de la progresión del daño renal en este modelo (6,80,81,82). Por ejemplo, las dietas ricas en grasas animales exacerban la hipercolesterolemia, incrementan la proteinuria y favorecen la progresión del daño renal (35,66), en tanto que la modificación de la hiperlipidemia por dietas (12,72) o mediante tratamiento con agentes hipolipemiantes como probucol (69), tienen el efecto contrario. La administración de ácido clofíbrico o lovastatina protegió a los animales con otro tipo de nefropatía experimental que también evoluciona a esclerosis glomerular focal y segmentaria (la nefrectomía de 5/6 de la masa de los riñones) contra la progresión del daño renal (74,75).

La administración de una sola dosis de aminonucleósido de puromicina de 15 mg/kg de peso corporal, por vía subcutánea produce hipercolesterolemia transitoria. El colesterol regresa a valores normales aproximadamente 21 días después de la administración del tóxico (112). En los animales del presente estudio, cuando se midieron el colesterol y los triglicéridos ocho semanas después de la administración de aminonucleósido de puromicina, ambos parámetros se encontraron con valores no diferentes de los previos a la administración del compuesto y permanecieron normales por el resto de la evolución, aún en los animales del grupo IV, que desarrollaron esclerosis glomerular. Tampoco pudieron descubrirse depósitos de lípidos en los glomérulos ni en los túbulos de los riñones con lesiones crónicas. Lo anterior apoya la idea de que la hiperlipidemia no es un factor indispensable en el mecanismo de progresión de las lesiones renales.

La hipertensión sistémica produce cambios hemodinámicos en la microcirculación glomerular, que se han asociado a lesiones de la pared capilar (42,70). En este estudio, la hipertensión sistémica (grupo II), sólo produjo elevación leve de la presión capilar glomerular comparada con la de los animales del grupo testigo, y no produjo lesiones histológicas glomerulares.

Cuando se asoció el mismo grado de hipertensión a una nefropatía leve, se observó daño renal importante en los glomérulos y en el intersticio. Estos cambios histológicos se asociaron con una elevación mucho mayor de la presión capilar glomerular. En los animales que sirvieron como controles hipertensos (grupo II), la presión capilar glomerular aumentó a 55.3 mm Hg, en tanto que en las ratas con nefropatía subyacente, aumentó hasta 63.2 mm Hg. Se ha informado que la hipertensión glomerular daña las asas capilares y produce glomeruloesclerosis (42,70). En formas severas de hipertensión experimental, como la hipertensión DOCA-sal (41) o la hipertensión asociada a la ablación de 5/6 de la masa renal (70), la resistencia aferente disminuye y, por lo tanto, se transmite una fracción mayor de la presión sistémica a los capilares glomerulares. En estas condiciones, el daño estructural de los glomérulos es muy evidente. En contraste, en las ratas espontáneamente hipertensas, una notable elevación de las resistencias aferentes protege a los capilares glomerulares de la transmisión de la hipertensión sistémica (9). Si se induce vasodilatación aferente en este modelo, se desarrolla daño estructural (42). Además, el control farmacológico de la hipertensión glomerular evita el desarrollo de esclerosis glomerular, según se ha demostrado en diversos estudios (31,107,146). En nuestro laboratorio se encontró que la presión capilar glomerular se encuentra elevada desde tres días después de la administración de aminonucleósido de puromicina (56), etapa en la que aún no se presenta proteinuria, pero ya hay disminución importante en la eliminación de sodio por la orina y retención hídrica (112).



La hipertensión glomerular observada en el grupo de animales con nefropatía e hipertensión sistémica (grupo IV) fue desproporcionada respecto a la elevación de la presión arterial sistémica. Los factores que determinaron esta respuesta anormal de la presión capilar glomerular no están bien definidos. Se ha demostrado que la hipertensión trastorna la autorregulación (116). De hecho, en los animales que sirvieron como controles hipertensos (grupo II), así como en los animales con nefrosis por aminonucleósido de puromicina con hipertensión sobreañadida (grupo IV), la respuesta de los vasos preglomerulares fue insuficiente para evitar la transmisión de la presión sistémica al glomérulo, lo que indica una disfunción del mecanismo autorregulador. Además, la disminución del coeficiente de ultrafiltración ( $K_f$ ) es otro factor que puede contribuir a explicar la elevación desproporcionada de la presión capilar glomerular. La disminución del  $K_f$  fue muy evidente en las ratas que recibieron aminonucleósido de puromicina, tanto normotensas (grupo III) como hipertensas (grupo IV), pero estuvo ausente en los controles hipertensos (grupo II). Puesto que la reducción del  $K_f$  disminuye la filtración de líquido hacia los túbulos proximales, una fracción mayor del flujo sanguíneo glomerular fluye hacia la arteriola eferente, lo que aumenta la presión capilar glomerular (22). Probablemente la disminución del  $K_f$  acentúe el trastorno de la autorregulación, ya que la disminución del líquido proximal hace que llegue menor cantidad de sodio a la mácula densa, lo que activa el mecanismo denominado "feedback" túbulo-glomerular (17). Las señales vasodilatadoras que envía la mácula densa en estas condiciones, pueden evitar la vasoconstricción aferente y permitir que una fracción mayor de la presión sistémica se transmita a los capilares glomerulares.

No hay un acuerdo unánime en cuanto a la importancia de la hipertensión capilar glomerular en la patogenia de la progresión del daño renal, ya que en un estudio longitudinal en el que se hizo micropunción secuencial de los mismos glomérulos, se vio que la administración de captopril evitó la progresión a esclerosis

glomerular, pero no redujo la presión capilar glomerular (47).

En los animales del presente estudio, se observó un incremento importante en la presión capilar glomerular sólo en el grupo de ratas que también presentaron esclerosis glomerular.

La hipertensión capilar glomerular no es el único mecanismo que se ha involucrado en este proceso fisiopatológico. Recientemente se ha dado mucha atención a la hipertrofia glomerular como mecanismo patogénico en la progresión del daño renal (48,49,52,102,103,142,143). Hasta el momento se ignora si la hipertrofia glomerular es causa o consecuencia de esclerosis glomerular. De acuerdo con la ley de Laplace, la tensión en la pared de una cavidad es proporcional a su radio, de manera que un incremento relativamente pequeño en el diámetro de un vaso, genera aumento considerable en la tensión de su pared que puede causar daño a los tejidos. En estudios recientes se ha encontrado correlación entre el tamaño de los glomérulos y la magnitud de las lesiones de glomeruloesclerosis (142,143). Se ignora si la hipertrofia glomerular obedece a causas hemodinámicas y es consecuencia del aumento en la presión hidráulica en los capilares glomerulares, o bien se debe a factores tróficos. Otros autores han pensado que la hipertrofia glomerular no es causa de la esclerosis glomerular sino que se debe a ella. Esta hipótesis sugiere que cuando algunos de los glomérulos sufren esclerosis y por tanto pierden su función, los glomérulos restantes se hipertrofian en forma compensadora.

El papel de la hipertrofia glomerular ha sido difícil de valorar y ha generado controversias en cuanto a su importancia (88), ya que se trata de una adaptación estructural que ocurre con frecuencia después de que se pierden nefronas funcionantes (52). En los animales del grupo IV del presente estudio se encontró una hipertrofia importante de los glomérulos asociada a hipertensión capilar glomerular y a esclerosis glomerular.

Por último, otro factor que pudo haber contribuido a la glomeruloesclerosis en las ratas con hipertensión sobreañadida a nefrosis leve por aminonucleósido de puromicina, fue la proteinuria persistente. El aumento del tránsito de macromoléculas a través del

mesangio puede producir sobrecarga de las células mesangiales, lesión y proliferación de las mismas, que a su vez puede causar sobreproducción de matriz mesangial y glomeruloesclerosis (20). Además, la fuga de proteínas al espacio urinario hace que se formen cilindros distales, que causan dilatación tubular, obstrucción y aumento de la presión intratubular, lo que causa roturas focales de la membrana basal tubular, que permiten el paso de las proteínas al intersticio, con lo que puede iniciarse una reacción inflamatoria intersticial. En la nefrosis por aminonucleósido de puromicina o por adriamicina se ha descrito nefritis intersticial aguda y crónica (38). En este estudio se observó poco daño intersticial en los grupos II y III. Sin embargo, en el grupo IV hubo cambios intersticiales notables.

En conclusión, estos resultados sugieren que en presencia de una nefropatía subyacente, la respuesta de la microcirculación glomerular a la hipertensión parece estar alterada, lo que permite que una porción mayor de la presión sistémica se transmita a los capilares glomerulares. Estos cambios causan hipertrofia glomerular y proteinuria, lo que puede contribuir a empeorar las lesiones y causar glomeruloesclerosis.

## REFERENCIAS.

1. Abboud H E, Ou S L, Velosa J A, Shah S V, Dousa T P: *Dynamics of renal histamine in normal rat kidney and in nephrosis induced by aminonucleoside of puromycin.* J Clin Invest 1978;62:327-336.
2. Anderson S, Meyer T W, Rennke H G, Brenner B M: *Control of glomerular hypertension limits glomerular injury in rats with reduced renal mass.* J Clin Invest 1985;76:612-619.
3. Anderson S, Rennke H G, Brenner B M: *Therapeutic advantage of converting enzyme inhibitors in arresting progressive renal disease associated with systemic hypertension in the rat.* J Clin Invest 1986;77:1993-2000.
4. Anderson S, Diamond J R, Karnovsky M J, Brenner B M: *Mechanisms underlying transition from acute glomerular injury to late glomerular sclerosis in a rat model of nephrotic syndrome.* J Clin Invest 1988;82:1757-1768.
5. Anderson S, Rennke H G, Garcia D L, Brenner B M: *Short and long term effects of antihypertensive therapy in the diabetic rat.* Kidney Int 1989;36:526-536.
6. Anderson S, King A J, Brenner B M: *Hyperlipidemia and glomerular sclerosis: an alternative viewpoint.* Am J Med 1989;87:34N-38N.
7. Andreucci V E: *Manual of renal micropuncture.* Idelson. Nápoles. 1987.
8. Appel G B, Blum C B, Chien S, Kunis C L, Appel A S: *The hyperlipidemia of the nephrotic syndrome. Relation to plasma albumin concentration, oncotic pressure and viscosity.* N Engl J Med 1985;312:1544-1548.

9. Arendshorst W J, Beierwaltes W H: *Renal and nephron hemodynamics in spontaneously hypertensive rats.* Am J Physiol 1979;236:F246-F251.
10. Arévalo A E, Ibarra-Rubio M E, Cruz C, Peña J C, Pedraza-Chaverrí J: *Angiotensin I-converting enzyme activity in puromycin aminonucleoside-nephrotic syndrome.* Clin Chim Acta 1990;191:175-184.
11. Baldwin D S, Neugarten J: *Treatment of hypertension in renal disease.* Am J Kidney Disease 1985;5:A57-A70.
12. Bar-Tana J, Rose-Kahn G, Frenkel B, Shafer Z, Fainaru M: *Hypolipidemic effect of B,B'-methyl-substituted hexadecanedioic acid (MEDICA 16) in normal and nephrotic rats.* J Lipid Res 1988;29:431-441.
13. Barratt M: *Proteinuria.* Brit Med J 1983;287:1489-1490.
14. Bauman J W: *On the mechanism of angiotensin induced proteinuria. I. Studies in aminonucleoside nephrotic rats and in saralasin blockade.* Nephron 1981;27:47-50.
15. Baylis C, Deen W M, Myers B D, Brenner B M: *Effect of some vasodilator drugs on transcapillary fluid exchange in renal cortex.* Am J Physiol 1976;230:1148-1158.
16. Baylis C, Brenner B M: *The physiologic determinants of glomerular ultrafiltration.* Rev Physiol Biochem Pharmacol 1978;80:1-46.
17. Bell P D, Franco-Guevara M, Abrahamson D R, Lapoint J Y, Cardinal J: *Cellular mechanisms for tubuloglomerular feedback signaling.* En: *The juxtaglomerular apparatus.* Persson A E G, Boberg U (Eds), Elsevier Sci. Publishers, Amsterdam, 1988, pp 63- 77.

18. Benigni A, Zoja C, Remuzzi A, Orisio S, Piccinelli A, Remuzzi G: *Role of renal prostaglandins in normal and nephrotic rats with diet-induced hyperfiltration.* J Lab Clin Med 1986;108:230-240.
19. Bernard D B: *Extrarenal complications of the nephrotic syndrome.* Kidney Int 1988;33:1184-1202.
20. Betani T, Zoja C, Abbate M, Rossini M, Remuzzi G: *Age-related nephropathy and proteinuria in rats with intact kidneys exposed to diets with different protein content.* Lab Invest 1989;60:205-218.
21. Beukers J J B, van der Wal A, Hoedemaeker P J, Weening J J: *Converting enzyme inhibition and progressive glomerulosclerosis in the rat.* Kidney Int 1987;32:794-800.
22. Blantz R C, Gabbai F, Gushwa L C, Wilson C B: *The influence of concomitant experimental hypertension and glomerulonephritis.* Kidney Int 1987;32:652-663.
23. Blythe W B: *Natural history of hypertension in renal parenchymal disease.* Am J Kidney Dis 1985;5:A50-A56.
24. Bohrer M P, Baylis C, Robertson C R, Brenner B M: *Mechanisms of the puromycin-induced defects in the transglomerular passage of water and macromolecules.* J Clin Invest 1977;60:152-161.
25. Brenner B M, Hostetter T H, Humes H D: *Molecular basis of proteinuria of glomerular origin.* N Engl J Med 1978;298:826-833.
26. Brenner B M, Meyer T W, Hostetter T H: *Dietary protein intake and the progressive nature of kidney disease: the role of hemodynamically mediated glomerular injury in the pathogenesis of progressive glomerular sclerosis in aging, renal ablation and intrinsic renal disease.* New Engl J Med 1982;307:652-659.

27. Chandra M, Hoyer J R, Lewy J E: Renal function in rats with unilateral proteinuria produced by renal perfusion with aminonucleoside. *Pediatr Res* 1981;15:340-344.
28. Cotran R S, Rennke H G: Anionic sites and the mechanisms of proteinuria. *N Engl J Med* 1983;309:1050-1051.
29. Cumming A D, Jeffrey S, Lambie A T, Robson J S: The kallikrein-kinin and renin-angiotensin systems in nephrotic syndrome. *Nephron* 1989;51:185-191.
30. Davidson W D, Sackne M A: Simplification of the anthrone method for determination of inulin in clearance studies. *J Lab Clin Med* 1963;62:351-356.
31. Diamond J R, Karnovsky M J: Nonanticoagulant protective effect of heparin in chronic aminonucleoside nephrosis. *Renal Physiol (Basel)* 1986;9:366-374.
32. Diamond J R, Bonventre J V, Karnovsky M J: A role for oxygen free radicals in aminonucleoside nephrosis. *Kidney Int* 1986;29:478-483.
33. Diamond J R, Karnovsky M J: Focal and segmental glomerulosclerosis following a single intravenous dose of puromycin aminonucleoside. *Am J Pathol* 1986;122:481-487.
34. Diamond J R, Karnovsky M J: Ameliorative effects of dietary protein restriction in chronic aminonucleoside nephrosis. *J Lab Clin Med* 1987;109:538-544.
35. Diamond J R, Karnovsky M J: Exacerbation of chronic aminonucleoside nephrosis by dietary cholesterol supplementation. *Kidney Int* 1987;32:671-677.

36. Diamond J R, Karnovsky M J: *Focal and segmental glomerulosclerosis: analogies to atherosclerosis*. *Kidney Int* 1988;33:917.
37. Diamond J R: *Hyperlipidemia of nephrosis: pathophysiologic role in progressive glomerular disease*. *Am J Med* 1989;87:25N-29N.
38. Diamond J R, Anderson S: *Irreversible tubulointerstitial damage associated with chronic aminonucleoside nephrosis. Amelioration by angiotensin I converting enzyme inhibition*. *Am J Pathol* 1990;137:1323-1332.
39. Diamond J R, Pesek-Diamond I: *Sublethal X-irradiation during acute puromycin nephrosis prevents late renal injury: role of macrophages*. *Am J Physiol* 1991;260:F779-F786.
40. DiBona G F, Herman P J, Sawin L L: *Neural control of renal function in edema forming states*. *Am J Physiol* 1988;254:R1017-R1024.
41. Dworkin L D, Hostetter T H, Rennke H H, Brenner B M: *Hemodynamic basis for glomerular injury in rats with desoxycorticosterone-salt hypertension*. *J Clin Invest* 1984;73:1448-1461.
42. Dworkin L D, Feiner H D: *Glomerular injury in uninephrectomized spontaneously hypertensive rats: a consequence of glomerular capillary hypertension*. *J Clin Invest* 1986;77:797-809.
43. Dworkin L D: *Effects of calcium antagonists on glomerular hemodynamics and structure in experimental hypertension*. *Am J Kidney Dis* 1991;17[5 suppl 1]:89-93.



44. Exaire E, Pollak V E, Pesce A J, Ooi B S: *Albumin and gamma-globulin in the nephron of the normal rat and following the injection of aminonucleoside*. *Nephron* 1972;9:42-54.
45. Feig P U, Rutan G H: *Angiotensin converting enzyme inhibitors: the end of end-stage renal disease*. *Ann Intern Med* 1989;111:449-451.
46. Fiegelson E B, Drake J W, Recant L: *Experimental aminonucleoside nephrosis in rats*. *J Lab Clin Med* 1957;50:437-446.
47. Fogo A, Yoshida Y, Glick A D, Homma T, Ichikawa I: *Serial micropuncture analysis of glomerular function in two rat models of glomerular sclerosis*. *J Clin Invest* 1988;82:322-330.
48. Fogo A, Hawkins E P, Berry P L, Glick A D, Chiang M L, MacDonell R C Jr, Ichikawa I: *Glomerular hypertrophy in minimal change disease predicts subsequent progression to focal glomerular sclerosis*. *Kidney Int* 1990;38:115-123.
49. Fogo A, Ichikawa I: *Evidence for a pathogenic linkage between glomerular hypertrophy and sclerosis*. *Am J Kidney Dis* 1991;17:666-669.
50. Franco M, Tapia E, Gabbai F, Cermeño J L, Calleja C, Pérez J M, Barrios R, Torres G, González F J, Alvarado J A, Herrera-Acosta J: *Alteración de la permeabilidad glomerular en hipertensión renovascular. Participación de angiotensina y lesiones estructurales*. *Arch Inst Cardiol (Méx)* 1986;56:13-24.
51. Freeman R M, Richards C J, Rames L K: *Zinc metabolism in aminonucleoside-induced nephrosis*. *Am J Clin Nutr* 1975;28:699-703.

52. Freis J W U, Sandstrom D J, Meyer T W, Rennke H G: *Glomerular hypertrophy and epithelial cell injury modulate progressive glomerulosclerosis in the rat*. Lab Invest 1989;60:205-218.
53. Frenk S, Antonowicz I, Craig J M, Metcoff J: *Experimental nephrotic syndrome induced in rats by aminonucleoside. Renal lesions and body electrolyte composition*. Proc Soc Exper Biol Med 1955;89:424-427.
54. Friedman M, Freed S C: *Microphonic manometer for indirect determination for systolic blood pressure in the rat*. Proc Soc Exper Biol Med 1947;70:670.
55. Fujihara C K, Limongi D M, Falzone R, Graudenz M S, Zatz R: *Pathogenesis of glomerular sclerosis in subtotally nephrectomized analbuminemic rats*. Am J Physiol 1991;261:F256-F264.
56. Gabhai F B, Bobadilla N, Tapia E, Calleja C, Romero L, Herrera-Acosta J: *Glomerular hemodynamics response to puromycin aminonucleoside before the appearance of proteinuria (Res.)*. Kidney Int 1988;33:410.
57. Gang N F, Mautner W: *Studies on the mechanism of the onset of proteinuria in aminonucleoside nephrosis*. Lab Invest 1972;27:310-316.
58. Garber D W, Gottlieb B A, Marsh J B, Sparks C E: *Catabolism of very low density lipoproteins in experimental nephrosis*. J Clin Invest 1984;74:1375-1383.
59. Ghiggeri G M, Cercignani G, Ginevri F, Bertelli R, Zetta L, Greco F, Candiano G, Trivelli A, Gusmano R: *Puromycin aminonucleoside metabolism by glomeruli and glomerular epithelial cells in vitro*. Kidney Int 1991;40:35-42.

60. Glasser R J, Velosa J A, Michael A F: *Experimental model of focal sclerosis. I. Relationship to protein excretion in aminonucleoside nephrosis.* Lab Invest 1977;36:519-526.
61. Goldblatt H, Lynch J, Hanzal R: *Studies on experimental hypertension. I. The production of persistent elevation of systolic blood pressure by means of renal ischaemia.* J Exp Med 1934;59:29.
62. Grond J, Koudstaal J, Elema J D: *Mesangial function and glomerular sclerosis in rats with aminonucleoside nephrosis.* Kidney Int 1985;27:405-410.
63. Grond J, Muller E W, van Goor H, Weening J J, Elema J D: *Differences in puromycin aminonucleoside nephrosis in two rat strains.* Kidney Int 1988;33:524-529.
64. Gross F, Buschor O, Zeugin P: *Renin in the kidneys of rats with aminonucleoside nephrosis.* Am J Physiol 1960;199:1-4.
65. Hardwicke J: *Proteinuria - the future?* Clin Nephrol 1984;21:50-53.
66. Heifets M, Morrissey J J, Purkerson M L, Morrison A L, Klahr S: *Effect of dietary lipids on renal function in rats with subtotal nephrectomy.* Kidney Int 1987;32:335-341.
67. Herrera-Acosta J, Franco M, Tapia E, Gabbai F, Cermeño J L, Calleja C, Pérez J M, Barrios R, Torres G: *Mechanism of glomerular permeability reduction in nonclipped kidney of rats with Goldblatt hypertension.* Hypertension 1986;8[Suppl I]:I-105 - I-109.
68. Herrera-Acosta J, Tapia E, Bobadilla N A, Romero L, Cermeño J L, Alvarado J A, Gabbai F B: *Evaluating hyperfiltration with glycine in hypertensive rats with renal ablation.* Hypertension 1988; 11[Suppl I]:I-33-I-37.

69. Hirano T, Mamo J C L, Ohnami K, Sugisaki T: *Treatment of hyperlipidemia with probucol reduces proteinuria in puromycin aminonucleoside-induced nephrotic rats.* Nephron 1990;54:358-359.
70. Hostetter T H, Olson J L, Rennke H G, Venkatachalam M A, Brenner B M: *Hyperfiltration in remnant nephrons: a potentially adverse response to renal ablation.* Am J Physiol 1981;241:F85-F93.
71. Ichikawa I, Rennke H G, Hoyer R J, Badr K F, Schor N, Troy J L, Lechene C P, Brenner B M: *Role for intrarenal mechanisms in the impaired salt excretion of experimental nephrotic syndrome.* J Clin Invest 1983;71:91-103.
72. Ito Y, Barcelli U, Yamashita W, Weiss M, Glass-Greenwalt P, Pollak V E: *Fish oil has beneficial effects on lipids and renal disease of nephrotic rats.* Metabolism 1988;37:352-357.
73. Jones C L, Buch S, Post M, McCulloch L, Liu E, Eddy A A: *Pathogenesis of interstitial fibrosis in chronic purine aminonucleoside nephrosis.* Kidney Int 1991;40:1020-1031.
74. Kasiske B L, O'Donnell M P, Garvis W J, Keane W F: *Pharmacologic treatment of hyperlipidemia reduces glomerular injury in rat 5/6 nephrectomy model of chronic renal failure.* Circ Res 1988;62:367-374.
75. Kasiske B L, O'Donnell M P, Cleary M P, Keane W F: *Effects of reduced renal mass on tissue lipids and renal injury in hyperlipidemic rats.* Kidney Int 1989;35:40-47.
76. Kawamura T, Yoshioka T, Bills T, Fogo A, Ichikawa I: *Glucocorticoid activates glomerular antioxidant enzymes and protects glomeruli from oxidant injuries.* Kidney Int 1991;40:291-301.

77. Kaysen G A, Kirkpatrick W C, Couser W G: *Albumin homeostasis in the nephrotic rat: nutritional considerations.* Am J Physiol 1984;247:F192-F202.
78. Kaysen G A, Myers B D, Couser W G, Rabkin R, Felts J M: *Mechanisms and consequences of proteinuria.* Lab Invest 1986;54:479-498.
79. Kaysen G A: *Albumin metabolism in the nephrotic syndrome: the effect of dietary protein intake.* Am J Kidney Dis 1988;12:461-480.
80. Kaysen G A: *Hyperlipidemia in the nephrotic syndrome.* Am J Kidney Dis 1988;12:548-551.
81. Keane W F, Kasiske B L, O'Donnell M P: *Lipids and progressive glomerulosclerosis. A model analogous to atherosclerosis.* Am J Nephrol 1988;8:261-271.
82. Keane W F, Kasiske B L, O'Donnell M P: *Hyperlipidemia and the progression of renal disease.* Am J Clin Nutr 1988;47:157-160.
83. Keane W F, Anderson S, Aurell M, de Zeeuw D, Narins R G, Povar G: *Angiotensin converting enzyme inhibitors and progressive renal insufficiency. Current experience and future directions.* Ann Intern Med 1989;111:503-516.
84. Klahr S, Purkerson M L, Heifets M: *Factors that may retard the progression of renal disease.* Kidney Int 1987;32 [Suppl 22]: S35-S39.
85. Klahr S, Schreiner G, Ichikawa I: *The progression of renal disease.* N Engl J Med 1988;318:1657-1666.

86. Klein D J, Dehnel P J, Oegema T R, Brown D M: *Alterations in proteoglycan metabolism in the nephrotic syndrome induced by the aminonucleoside of puromycin*. Lab Invest 1984;50:543-551.
87. Kobayashi S, Nagase M, Honda N, Adachi K, Ichinose N, Hishida A: *Analysis of anionic charge of the glomerular basement membrane in aminonucleoside nephrosis*. Kidney Int 1989;35:1405-1408.
88. Lafferty H M, Brenner B M: *Are glomerular hypertension and "hypertrophy" independent risk factors for progression of renal disease?* Seminars Nephrol 1990;10:294-304.
89. Landis E R, Pappenheimer J R: *Exchange of substances through the capillary wall*. En: Handbook of physiology of circulation, Washington D C, American Physiology Society. Sect 2, Vol II, 1961.
90. Lelongt B, Makino H, Kanwar Y S: *Status of glomerular proteoglycans in aminonucleoside nephrosis*. Kidney Int 1987;31:1299-1310.
91. Lewandowski A E, Liao W S L, Stinson-Fisher C A, Kent J D, Jefferson L S: *Effects of experimentally induced nephrosis on protein synthesis in rat liver*. Am J Physiol 1988;254:C634-C642.
92. Lewy J E: *Micropuncture study of fluid transfer in aminonucleoside nephrosis in the rat*. Pediatr Res 1976;10:30-34.
93. Mahan J D, Sisson-Ross S, Vernier R L: *Glomerular basement membrane anionic charge site changes early in aminonucleoside nephrosis*. Am J Pathol 1986;125:393-401.
94. Marinides G N, Groggel G C, Cohen A H, Cook T, Baranowski R L, Westenfelder C, Border W A: *Failure of angiotensin converting enzyme inhibition to affect the course of chronic puromycin aminonucleoside nephropathy*. Am J Pathol 1987;129:349-401.

95. Marinides G N, Groggel G C, Cohen A H, Border W A: *Enalapril and low protein reverse chronic puromycin aminonucleoside nephropathy*. *Kidney Int* 1990;37:749-757.

96. Mauer M S, Steffes M W, Azar S, Sandberg S K, Brown D M: *The effects of Goldblatt hypertension on the development of the glomerular lesions of diabetes mellitus in the rat*. *Diabetes* 1978;27:738-744.

97. Medina A, Davies D L, Brown J J, Fraser R, Lever A F, Mallick N P, Morton J J, Robertson J I S, Tree M: *A study of renin-angiotensin system in the nephrotic syndrome*. *Nephron* 1974;12:233-240.

98. Messina A, Davies D J, Dillane P C, Ryan G B: *Glomerular epithelial abnormalities associated with the onset of proteinuria in aminonucleoside nephrosis*. *Am J Pathol* 1987;126:220-229.

99. Meyer T W, Rennke H G: *Progressive glomerular injury after limited renal infarction in the rat*. *Am J Physiol* 1988;254:F856-F862.

100. Meyer T W, Rennke H G: *Increased single nephron protein excretion after renal ablation in nephrotic rats*. *Am J Physiol* 1988;24:F1243-F1248.

101. Miller P L, Meyer T W: *Plasma protein concentration and colloid osmotic pressure in nephrotic rats*. *Kidney Int* 1988;34:220-223.

102. Miller P L, Scholey J W, Rennke H G, Meyer T W: *Glomerular hypertrophy aggravates epithelial cell injury in nephrotic rats*. *J Clin Invest* 1990;85:1119-1126.

ESTA TESIS NO DEBE  
SALIR DE LA BIBLIOTECA

103. Miller P L, Rennke H G, Meyer T W: *Glomerular hypertrophy accelerates hypertensive glomerular injury in rats.* Am J Physiol 1991;261:F459-F465.

104. Nakamura T, Ebihara I, Fukui M, Tomino Y, Koide H: *Effects of methylprednisolone on glomerular and medullary mRNA levels for extracellular matrices in puromycin aminonucleoside nephrosis.* Kidney Int 1991;40:874-881.

105. Neugarten J, Feiner H D, Schacht R G, Gallo G R, Baldwin D S: *Aggravation of experimental glomerulonephritis by superimposed clip hypertension.* Kidney Int 1982;22:257-263.

106. Neugarten J, Feiner H D, Schacht R G, Baldwin D S: *Amelioration of experimental glomerulonephritis by dietary protein restriction.* Kidney Int 1983;24:595-601.

107. Neugarten J, Kaminetsky B, Feiner H, Schacht R G, Liu D T, Baldwin D S: *Nephrotoxic serum nephritis with hypertension: amelioration by antihypertensive therapy.* Kidney Int 1985;28:135-139.

108. Neugarten J, Alfino P, Langs C, Schacht R G, Baldwin D S: *Nephrotoxic serum nephritis with hypertension: perfusion pressure and permselectivity.* Kidney Int 1988;33:53-57.

109. Nevins T E, Gaston T, Basgen J M: *Quantitative indexes of aminonucleoside-induced nephrotic syndrome.* Am J Pathol 1984;117:30-36.

110. Oken D E, Flamenbaum W: *Micropuncture studies of proximal tubule albumin concentrations in normal and nephrotic rats.* J Clin Invest 1971;50:1498-1504.



111. Oken D E, Cotes S C, Mende C W: *Micropuncture study of tubular transport of albumin in rats with aminonucleoside nephrosis*. *Kidney Int* 1972;1:3-11.
112. Pedraza-Chaverri J, Cruz C, Ibarra-Rubio M E, Chávez M T, Calleja C, Tapia E, Uribe M C, Romero L, Peña J C: *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 Clín (Méx)* 1990;42:29-38.
113. Pedraza-Chaverri J, Cruz C, Chávez M T, López A, Ibarra-Rubio M E, Tapia E, Peña J C: *Pathophysiology of experimental nephrotic syndrome induced by puromycin aminonucleoside in rats. II. In vitro release of renin, angiotensinogen and aldosterone*. *Rev Invest Clín (Méx)* 1990;42:120-126.
114. Pedraza-Chaverri J, Cruz C, Chávez M T, Ibarra-Rubio M E, Tapia E, Peña J C: *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 Clín (Méx)* 1990;42:210-216.
115. Pedraza-Chaverri J, Huberman A: *Actinomycin D blocks the hepatic functional albumin mRNA increase in aminonucleoside-nephrotic rats*. *Nephron* 1991;59:648-650.
116. Ploth D W: *Angiotensin dependent mechanism in two kidney one clip renal vascular hypertension*. *Am J Physiol* 1983;245:F131-F141.
117. Pryor J S: *Diseases of the urinary system. Proteinuria*. *Br Med J* 1977;1:307-308.

118. Purkerson M L, Tollefsen D M, Klahr S: *N-desulfated acetylated heparin ameliorates the progression of renal disease in rats with subtotal renal ablation.* J Clin Invest 1988;81:69-74.

119. Radin M J, Wilke W L, Fettman M J: *Effect of captopril on chronic puromycin aminonucleoside nephrosis in rats.* Res Commun Chem Pathol Pharmacol 1986;54:279-282.

120. Raij L, Azar S, Keane W: *Mesangial immune injury, hypertension, and progressive glomerular damage in Dahl rats.* Kidney Int 1984;26:137-143.

121. Remuzzi A, Puntorieri S, Battaglia C, Bertani T, Remuzzi G: *Angiotensin converting enzyme inhibition ameliorates glomerular filtration of macromolecules and water and lessens glomerular injury in the rat.* J Clin Invest 1990;85:541-549.

122. Richards A N: *Kidney function.* Harvey lectures 1920-21;16:163.

123. Saito T, Sumithran E, Glasgow E S, Atkins R C: *The enhancement of aminonucleoside nephrosis by the co-administration of protamine.* Kidney Int 1987;32:691-699.

124. Saito T, Sato H, Obara K, Yamakage K, Abe K, Furuyama T, Yoshinaga K: *Progression of the experimental focal glomerulosclerosis in the spontaneously hypertensive rat.* J Lab Clin Med 1990;115:165-173.

125. Schreiner G F, Cotran R S, Unanue E R: *Modulation of Ia and leukocyte common antigen expression in rat glomeruli during the course of glomerulonephritis and aminonucleoside nephrosis.* Lab Invest 1984;51:524-533.

126. Sessa A, Conte F, Cioffi A, D'Amico G: *Aminonucleoside nephrosis in rats. Ultrastructural findings in the glomerulus by concomitant influence of indomethacin and aminonucleoside.* Nephron 1975;14:299-308.
127. Shimamura T, Morrison A B: *A progressive glomerulosclerosis occurring in partial five-sixths nephrectomized rats.* Am J Pathol 1975;79:95-106.
128. Sokal R R, Rohlf F J: *Biometry. The principles and practice of statistics in biological research.* W H Freeman and Co., San Francisco, 1969.
129. Sussman H C, Fowler B, Findley T: *Observations on the renal metabolism of protein in experimental and clinical nephrotic syndromes.* Metabolism 1968;17:336-344.
130. Thakur V, Walker P D, Shah S V: *Evidence suggesting a role for hydroxyl radical in puromycin aminonucleoside-induced proteinuria.* Kidney Int 1988;34:494-499.
131. Tratchman H, Zamilowitz B, Bennett B, Goldsmith D I: *The effect of captopril on urinary protein excretion in puromycin aminonucleoside nephrosis in rats.* Pediatr Res 1985;19:828-834.
132. Tratchman H, Del Pizzo R, Futterweit S, Levine D, Rao P S, Valderrama E, Sturman J A: *Taurine attenuates renal disease in chronic puromycin aminonucleoside nephropathy.* Am J Physiol 1992;262:F117-F123.
133. Ulich T R, Meline J A, Ni R X, Keys M, Wu C H: *Stable analogs of prostaglandins E<sub>1</sub> and F<sub>2α</sub> ameliorate the proteinuria of aminonucleoside-of-puromycin nephrosis in Lewis rats.* Am J Pathol 1987;129:133-139.

134. Viets J W, Deen W M, Troy J L, Brenner B M: *Determination of serum protein concentration in nanoliter blood samples using fluorescamine of O-phtalaldehyde*. Anal Biochem 1978;88:513-521.
135. Vurek G C, Pegram S E: *Fluorometric method for the determination of nanogram quantities of inulin*. Anal Biochem 1966;16:409-419.
136. Velosa J A, Glasser R J, Nevins T E, Michael A F: *Experimental model of focal sclerosis. II. Correlation with immunopathologic changes, macromolecular kinetics, and polyanion loss*. Lab Invest 1977;36:527-534.
137. Walker A M, Oliver J: *Methods for the collection of fluid from single glomeruli and tubules from the mammalian kidney*. Am J Physiol 1941;134:562.
138. Weibel E R: *Stereological methods*. Volume 1. Practical methods for biological morphometry. Academic Press. Londres, 1979.
139. Whelton P K, Klag M J: *Hypertension as a risk factor for renal disease. Review of clinical and epidemiological evidence*. Hypertension 1989;13 [suppl I];I19-I27.
140. Wilson S G F, Hackel D B, Horwood S, Nash G, Heymann W: *Aminonucleoside nephrosis in rats*. Pediatrics 1958;21:963-973.
141. Yamauchi A, Imai E, Noguchi T, Tanaka T, Yamamoto S, Mikami H, Fukuhara Y, Fujii M, Orita Y, Kamada T: *Albumin gene transcription is enhanced in liver of nephrotic rats*. Am J Physiol 1988;254:E676-E679.
142. Yoshida Y, Kawamura T, Ikoma M, Fogo A, Ichikawa I: *Effects of antihypertensive drugs on glomerular morphology*. Kidney Int 1989;36:626-635.

143. Yoshida Y, Fogo A, Ichikawa I: *Glomerular hemodynamic changes vs. hypertrophy in experimental glomerular sclerosis*. *Kidney Int* 1989;35:654-660.

144. Yoshioka T, Shiraga H, Yoshida Y, Fogo A, Glick A D, Deen W M, Hoyer J R, Ichikawa I: *"Intact nephrons" as the primary origin of proteinuria in chronic renal disease. Study in the rat model of subtotal nephrectomy*. *J Clin Invest* 1988;82:1614-1623.

145. Zatz R, Meyer T W, Rennke H G, Brenner B M: *Predominance of hemodynamic rather than metabolic factors in the pathogenesis of diabetic glomerulopathy*. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1985;82:5963-5967.

146. Zatz R, Dunn B R, Meyer T W, Anderson S, Rennke H G, Brenner B M: *Prevention of diabetic glomerulopathy by pharmacological amelioration of glomerular capillary hypertension*. *J Clin Invest* 1986;77:1925-1930.