



Universidad Nacional Autónoma
de México

Facultad de Ciencias

Alteraciones Metabólicas en el Síndrome Nefrótico

Tesis

que para obtener el título de

Bióloga

presenta:

María de Jesús Rodríguez Fernández



México, D.F.

1994

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN



Universidad Nacional
Autónoma de México

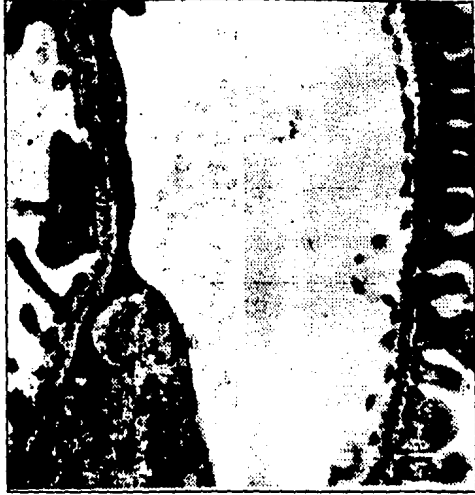


UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso

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.



"No os dejéis corromper por un escepticismo estéril y deprimente; no os desalentéis ante la tristeza de ciertas horas que pasan sobre las naciones. Vivid en la serena paz de los laboratorios y de las bibliotecas. Hasta que llegue el día en que podáis tener la íntima satisfacción de pensar en que habéis contribuido de alguna manera al progreso y al bienestar de la Humanidad".

Luis Pasteur, 1892.

Esta tesis se realizó en el Departamento de Nefrología y Metabolismo Mineral del Instituto Nacional de la Nutrición "Salvador Zubirán" bajo la dirección del Dr. Jose Pedraza Chaverri.

**A los pacientes con síndrome nefrótico y
A todos los que estudian el síndrome nefrótico.**

A mi papá por su apoyo a lo largo de mi formación profesional.

A mi mamá y a Enrique por la ayuda que me han dado y en admiración a su esfuerzo por lograr una bonita familia.

A mi hermano Jaime y a Cinthya por lo que han hecho y por lo que viene.

A mis hermanas esperando crear en ellas la ilusión de llegar a esta etapa.

A mi abuela por su cariño y sabiduría.

A mis tios por sus consejos.

A ti Ernesto por todo.

Agradezco el tiempo e interés brindado en la dirección y/o revisión de este trabajo a:

Dr. José Pedraza Chaverri

M. en C. María Elena Ibarra Rubio

Dra. Alejandra Mainero del Paso

M. en C. María Cristina Velasquillo Martínez

Q.F.B. Jose Luis Silencio Barrita

INDICE

Lista de Abreviaturas.	v
Objetivo y Justificación.	vii
Capítulo 1. Conceptos Básicos: Fisiología y Bioquímica de la Barrera de Filtración Glomerular.	1
Anatomía y fisiología renal.	1
Barrera de filtración glomerular.	3
- Células endoteliales.	
- Membrana basal glomerular (MBG).	
- Células epiteliales.	
Composición de la MBG.	5
Determinantes de la filtración glomerular.	11
- Tamaño molecular.	
- Carga neta molecular.	
- Forma y configuración de las moléculas.	
- Carga, tamaño y forma de los poros de la barrera de filtración.	
- Hemodinámica.	
Estudios ultraestructurales.	15
Capítulo 2. Generalidades del Síndrome Nefrótico.	19
Síndrome Nefrótico (SN).	19
Modelos experimentales de SN.	22
- Nefritis por suero nefrotóxico (SNT).	
- Nefritis de Heymann.	
- Adriamicina (ADR).	
- Aminonucleósido de puromicina (ANP).	

Capítulo 3. Fisiopatología de la Proteinuria en el Síndrome Nefrótico.	29
Fisiopatología de la proteinuria en humanos con SN.	29
Fisiopatología de la proteinuria en los modelos experimentales de suero nefrotóxico (SNT) y adriamicina (ADR).	31
Fisiopatología de la proteinuria en el modelo experimental con aminonucleósido de puromicina (ANP).	33
- Evidencias a favor de la alteración en el tamaño.	
- Evidencias a favor de la alteración en la carga.	
- Alteraciones metabólicas de los heparán sulfato-proteoglicanos (HSPG) en el SN.	
Capítulo 4. Metabolismo y Mecanismo de Daño en el SN Experimental.	41
Modelo experimental de SN por adriamicina (ADR).	41
- Formación de radicales libres del oxígeno.	
- Mecanismo de la formación de semiquinonas.	
- Mecanismo dependiente del complejo doxorubicina-Fe ²⁺ .	
- Mecanismo vía metabolismo de las purinas-pirimidinas.	
Modelo experimental de SN por suero nefrotóxico (SNT).	48
- Mecanismo a través de radicales libres del oxígeno.	
- Mediadores de proteinuria.	
Modelo experimental de SN por aminonucleósido de puromicina (ANP).	49
- Estructura del ANP.	
- Distribución del ANP en el organismo.	
- Excreción del ANP.	
- Susceptibilidad del ANP.	
Metabolismo del ANP (Ruta metabólica de las purinas).	52
Mecanismo de acción del ANP.	54
Metabolismo del ANP (Evidencias en contra de la ruta metabólica de las purinas)	56
Compuestos análogos del ANP y sustancias que modifican la proteinuria.	57

Capítulo 5. Metabolismo de Proteínas.	59
Hipoalbuminemia.	59
Síntesis de albúmina en el SN.	60
Catabolismo de albúmina.	61
Factores que modifican el metabolismo de la albúmina.	61
- Presión oncótica.	
- Efecto de la dieta sobre la síntesis y catabolismo de albúmina.	
Toxicidad por hipoalbuminemia.	63
Alteraciones de algunas proteínas del sistema inmune.	63
Alteraciones en las proteínas acarreadoras de metales.	64
Anormalidades en la coagulación.	65
Alteraciones en el metabolismo de hormonas.	68
Alteraciones en el metabolismo de Ca^{2+} y vitamina D.	68
Alteraciones enzimáticas.	69
Alteraciones de diversas proteínas del SRAA.	69
Capítulo 6. Formación de Edema y Retención de Sodio.	71
Concepto tradicional.	71
Evidencias en contra del concepto tradicional de la formación del edema y la retención de sodio en pacientes con SN.	72
Evidencias en contra del concepto tradicional de la formación del edema y la retención de sodio en el modelo experimental de SN.	73
Hipótesis propuesta.	75
Capítulo 7. Metabolismo de Aminoácidos.	77
Disfunción tubular renal.	77
Tipos de aminoaciduria.	77
Capítulo 8. Metabolismo de Lípidos.	81
Introducción.	81
Niveles lipídicos en el SN.	82
Composición de las lipoproteínas en el SN.	83
Alteraciones en la síntesis de lipoproteínas en el SN.	84
Estímulos que aumentan la síntesis de lipoproteínas.	85
Catabolismo de lipoproteínas en el SN.	85
Excreción de lipoproteínas en el SN.	87
Consecuencias de la hiperlipidemia.	88

Capítulo 9. Metabolismo de Carbohidratos.
Glicosuria en el SN.

Conclusiones.

Bibliografía.

91

91

93

97

Lista de abreviaturas

- ACTH. Hormona pituitaria
adrenocorticotrópica.
- ADANP. Adenosin derivado del ANP ó
6-amino-9-(3'-amino-3'-desoxi- β -D-
ribofuranosil) purina.
- ADH. Hormona antidiurética.
- ADR. Adriamicina.
- ae. Tamaño efectivo hidrodinámico (ESR).
- alfa-OG. Alfa-oxoglutarato.
- alfa2-APL. Antiplasmina- α 2.
- Ang I. Angiotensina I.
- Ang II. Angiotensina II.
- Ang III. Angiotensina III .
- ANIT. Alfa-naftilisotiocinato.
- ANP. Aminonucleósido de puromicina.
- anti-EHS-HSPG. Anticuerpos anti-HSPG
de la matriz tumoral de EHS.
- anti-MBG-HSPG. Anticuerpos anti-HSPG
de MBG.
- AS. Acido siálico.
- ASB. Albúmina sérica de bovino.
- AT III. Antitrombina III.
- BENZ. Benzoato de sodio.
- CAC. Ciclo del ácido cítrico.
- CEG. Células epiteliales glomerulares.
- CEI. Inhibidor de la enzima convertidora.
- Con A. Concalvina-A.
- Cp. Ceruloplasmina.
- DAA. Desaminasa de la adenosina.
- DA-Ado. ANP sin modificación.
- DEAE. Dietilaminoetil.
- DF. Diafragma de filtración.
- DFO. Desferroxamina.
- DMA. Dimetiladenosina.
- DMSO. Dimetil sulfóxido.
- DMTU. Dimetiltiurea.
- ECA. Enzima convertidora de
angiotensina.
- ECM. Enfermedad de cambios mínimos.
- EHS. Línea tumoral celular.
- ESR. Einstein stokes radius (es el tamaño
de la molécula) .
- EU. Espacio urinario.
- FC. Ferritina catiónica.
- FCI. Ferritina catiónica marcada con iodo
radiactivo.
- FFA. Acidos grasos libres.
- FN. Ferritina nativa.
- FPR. Flujo plasmático renal.
- FPV. Factor de permeabilidad vascular.
- GAG. Glicosaminoglicano.
- GAGs. Glicosaminoglicanos.
- GE. Glomeruloesclerosis.
- GEFS. Glomeruloesclerosis focal
segmentaria.
- GP. Glicoproteína.
- HDL. Lipoproteínas de alta densidad.
- HPLC. Cromatografía de columna de alta
resolución.
- HS. Heparán sulfato.
- IDANP. Inosin derivado del ANP ó
6-hidroxi-9-(3'-amino-3'-desoxi- β -D
ibofuranosil) purina.
- IDL. Lipoproteínas de densidad intermedia.
- IRC. Insuficiencia renal crónica.
- Kf. Coeficiente de ultrafiltración
glomerular.
- LC. Lumen capilar.
- LCAT. Lecitin-colesterol acil transferasa.
- LD. Lámina densa.

LDL. Lipoproteínas de baja densidad.
LH. Lipasa hepática.
LPL. Lipasa de lipoproteínas.
LRE. Lámina rara externa.
LRI. Lámina rara interna.
LTs. Leucotrienos.
MA-Ado. Monometil derivado (o MMPA).
MB. Membrana basal.
MBG. Membrana basal glomerular.
MDA. Malondialdehído.
MMA. N-metiladenosina.
MMDANP. monometil derivado del ANP ó
6-monometilamino-9-(3'-amino-3'-
desoxi- β -D-ribofuranosil) purina.
nASB. Albúmina neutra.
NSasa. Nucleosidasa.
PCG. Pared capilar glomerular.
PcG. Presión capilar glomerular.
PEG. Polietilenglicol.
PEI. Polietilenimida.
PEP. Fosfoenol piruvato.
PG. Proteoglicano.
PGE2. Prostaglandina.
PGHS. Proteoglicano heparán sulfato.
PGI2. Prostaglandina.
PH. Presión hidrostática.
PHA. Fitohemaglutinina.
PO. Presión oncótica.
POR. Peroxidasa de rábano.
PORa. Peroxidasa de rábano aniónica.
PORc. Peroxidasa de rábano catiónica.
PORn. Peroxidasa de rábano neutra.
PP. Procesos podocíticos.
PVP. Polivinilpirrolidina.
RASO. Radical aniónico superóxido.
RMN. Espectroscopia de resonancia
magnética nuclear.
RSE. Resonancia de spin del electrón.
sc. Subcutáneas.
SN. Síndrome nefrótico.
SNCM. Síndrome nefrótico de cambios
mínimos.
SNT. Suero nefrotóxico.
SOD. Superóxido dismutasa.

SRAA. Sistema renina-angiotensina-
aldosterona.
TG. Triglicéridos.
TxA2. Tromboxano A2.
TxB2. Tromboxano (derivado de
prostaglandinas).
VFG. Velocidad de filtración glomerular.
VLDL. Lipoproteínas de muy baja
densidad.
XDH. Xantin-deshidrogenasa.
XO. Xantin-oxidasa.

Objetivo y Justificación

El Objetivo es llevar a cabo una revisión bibliográfica desde los primeros estudios que se tienen hasta la actualidad acerca de las características fisiopatológicas, los mecanismos de acción y las alteraciones metabólicas que se presentan en el SN humano y experimental.

Siendo la investigación una actividad prioritaria en el desarrollo de cualquier nación, la integración de grupos de trabajo interdisciplinarios es una forma de optimizar nuestros recursos logrando mejores resultados.

Mi trabajo como parte de éste grupo es la de reunir en ésta tesis la información que a lo largo de la historia los científicos han proporcionado en pequeños datos o en grandes descubrimientos y que han podido ser las bases y antecedentes de investigaciones actuales y futuras en el SN humano y experimental. En nuestro país la investigación es incipiente con respecto a países desarrollados por lo que esta actividad debe ser prioritaria, para lograrlo es necesario trabajar interdisciplinariamente tanto en las bibliotecas como en laboratorios para poder realizar con nuestros propios recursos investigación reconocida a nivel mundial, a fin de garantizar a largo plazo la independencia tecnológica y científica de nuestro país.

Conceptos Básicos: Fisiología y Bioquímica de la Barrera de Filtración Glomerular

Anatomía y Fisiología Renal.

La unidad funcional renal se llama nefrona, en el humano cada riñón contiene un millón de nefronas aproximadamente y cada una consta de un corpúsculo renal y un sistema tubular. En cuanto al riego sanguíneo se tiene que la vía aferente esta constituida por la arteria aorta que se divide en arterias y arteriolas, mientras que el flujo eferente esta constituido por arteriolas, vasos y venas que terminan en la vena cava inferior. El riego sanguíneo guarda íntima relación con la nefrona por medio de un penacho de capilares llamado glomérulo, que descansa en una depresión en forma de copa del sistema tubular que recibe el nombre de cápsula glomerular o cápsula de Bowman. Todas estas estructuras forman el corpúsculo o cuerpo de Malpighi. De la cápsula del glomérulo parte un túbulo largo que consta de una porción contorneada proximal, el asa de Henle y una porción contorneada distal. El túbulo se desenrolla a partir del área cortical y termina por unirse a otras nefronas en un tubo colector más grande. El punto en el cual la porción del túbulo contorneado distal entra en contacto con la arteriola aferente se llama aparato yuxtglomerular, el cual secreta renina, enzima importante en la regulación de la presión arterial. El proceso de filtración del agua y otros compuestos por el glomérulo conduce a la formación de la orina. La orina contiene 96% de agua en la cual se hayan disueltas sales, toxinas, pigmentos, hormonas y desechos del metabolismo de las proteínas, es decir compuestos orgánicos e inorgánicos. El gasto urinario es de unos 1500 ml en 24 hr en el humano (Figura 1).

Figura 1.- Composición de la orina.

Solutos (60 g/día)	Desechos orgánicos (35 g/día)	Urea 30.0 g
		Creatinina 1.2 g
		Amoníaco 1.2 g
		A. Úrico 1.0 g
		Otros 1.0 g
	Sales inorgánicas (25 g/día)	Cloruro
		Sodio
		Sulfato
		Potasio
		Fósforo
		Magnesio

Mecanismo de formación y excreción de orina:

Los pasos en la elaboración de la orina por el riñón son: el glomerular (formación primaria de orina); y el tubular con los procesos sucesivos o simultáneos de la resorción (desde la luz tubular a la sangre), y la secreción (desde la sangre a la luz del túbulo). Excepto por la ausencia de proteínas, el filtrado glomerular es casi idéntico en composición al plasma.

La resorción y la secreción cambian la composición del filtrado. Estos procesos constituyen mecanismos para eliminar o conservar sustancias con base en las necesidades del cuerpo. De este modo, las sustancias que tienen valor nutritivo se resorben por completo o casi por completo, y los productos de desecho no se absorben, o en muy poca cantidad, o se secretan. Además, la resorción y secreción de sustancias están reguladas para conservar sus concentraciones normales en los líquidos corporales.

Filtración glomerular:

El glomérulo actúa como una membrana semipermeable que permite que el filtrado de plasma, libre de proteína, pase a través de la cápsula de Bowman. El filtrado glomerular tiene un pH de aproximadamente 7.4 y existen en él niveles normales de diversas sustancias en las siguientes concentraciones:

Glucosa 80 mg/100 ml
Nitrógeno de urea 15 mg/100 ml
Sodio 140 meq/l
Cloruro 100 meq/l
Bicarbonato 27 meq/l
Potasio 4.5 meq/l

El proceso de filtración glomerular es esencialmente pasivo. La sangre llega al glomérulo por la arteriola aferente, los capilares glomerulares se unen para formar una arteriola eferente de salida, que da origen a la red capilar peritubular. La resistencia a la corriente de la sangre de la arteriola eferente de diámetro pequeño, es un factor importante para conservar alta la presión glomerular, al mismo tiempo que crea una presión baja de los capilares peritubulares, una situación favorable para la resorción tubular. La presión de filtración representa la presión sanguínea glomerular (hidrostática. Aprox 60 mm de Hg) menos la presión osmótica glomerular (32 mm de Hg) y la presión hidrostática capsular (18 mm de Hg). En base a los datos anteriores, la presión de filtración glomerular es de 10 mm de Hg.

Resorción y secreción tubulares:

La composición final de la orina depende principalmente de la resorción más que de la secreción. Sin embargo, la secreción es la causa de la presencia de iones de potasio en la orina, y la síntesis y la secreción de hidrógeno por las células tubulares es importante en la regulación del equilibrio acidobásico en los líquidos corporales. La resorción y secreción pueden tener lugar como procesos tanto activos como pasivos.

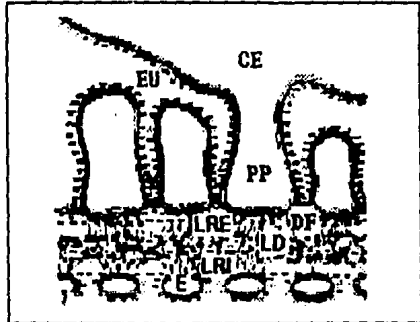
Las sustancias resorbidas activamente incluyen iones de sodio, glucosa, aminoácidos, ácido úrico, ácido beta-hidroxibutírico, ácido acetoacético, iones de calcio, iones de fosfato y iones de sulfato. La mayor parte de la resorción tiene lugar en los túbulos proximales.

Barrera de Filtración Glomerular.

El glomérulo del riñón presenta alta permeabilidad al agua y evita el filtrado de grandes moléculas como la albúmina (PM=68,000 Da) y proteínas séricas [D3]. Esta barrera glomerular al paso de macromoléculas esta constituida por [K16,D3] (Figura 2):

- 1) Células endoteliales.
- 2) Membrana basal glomerular (MBG).
- 3) Células epiteliales.

Figura 2. Barrera de filtración glomerular. E= Endotelio perforado por fenestras; LRI= Lámina rara interna; LD= Lámina densa; LRE= Lámina rara externa; PP= Procesos podocíticos; DF= Diafragma de filtración; CE= Células epiteliales; EU= Espacio urinario [K16].



1) Células endoteliales: La capa endotelial está formada por células endoteliales a manera de bandera dispuestas a lo largo de la parte interna de la MBG por lo cual están en contacto directo con la sangre. Miden aproximadamente 40 nm de grosor y una de sus características es que presentan agujeros o fenestras que no tienen diafragmas que los cierren. Las fenestras son de forma redonda y varían en diámetro de 40 a 100 nm, presentando en la superficie glicocálices polianiónicos [K16,D3]. La mayoría de la superficie celular polianiónica se debe a la presencia de una sialoproteína llamada podocalixina (140,000 Da) que se ha inmunolocalizado en la superficie luminal del endotelio vascular en el riñón [H33].

2) MBG: consiste de tres capas que difieren en la densidad electrónica al visualizarse con marcadores de metales pesados:

a) lámina rara interna: es una capa interna o subendotelial, con alta densidad electrónica y mide aproximadamente de 40 a 60 nm de espesor en la rata.

b) lámina densa: es una capa media, electrón opaca o moderada en la densidad de electrones, finamente fibrilar. En ratas mide entre 40 a 60 nm de espesor y en el humano es mayor de 100 nm.

c) lámina rara externa: es una capa externa, subepitelial, con muy alta densidad electrónica, aproximadamente de 40 a 60 nm de espesor en la rata.

En el hombre, el espesor de la MBG es de 240 a 340 nm y cada capa ocupa aproximadamente una tercera parte del total.

3) Células epiteliales: las células glomerulares epiteliales o podocitos, extienden los procesos trabeculares de sus cuerpos celulares que son llamados procesos podocíticos los cuales están aparentemente parcialmente embebidos en la capa externa o lámina rara externa a una

profundidad de 40 a 50 nm [K16,D3]. Estas células constituyen la parte más externa de la barrera de filtración glomerular y están en contacto directo con el espacio urinario.

No se sabe exactamente el significado funcional de los procesos podocíticos, pero se cree que están involucrados en el mantenimiento y regulación del calibre de las aberturas epiteliales o poros a través de un mecanismo contráctil integrado. Los procesos podocíticos contienen manojos de elementos contráctiles (microfilamentos) así como microtúbulos; ambos pueden estar involucrados en el mantenimiento de la arquitectura y la geometría dinámica del sistema. Se ha observado que la parte basal de los procesos podocíticos contiene constituyentes de membrana plasmática que están ausentes en la parte apical de la superficie de los podocitos [O12,R33]. La célula epitelial es capaz de pinocitar macromoléculas y de formar lisosomas digestivos. Entre las interdigitaciones de los procesos podocíticos están los agujeros epiteliales (poros o agujeros de filtración) en la parte externa de la MBG que se abren hacia el espacio urinario. Tienen un ancho de 20-30 nm en su punto más angosto, en donde presentan un diafragma delgado de 4-6 nm de grosor conocido como diafragma de filtración (Figura 3). Se ha demostrado que este diafragma tiene una subestructura de unidades parecidas a varillas conectadas a una barra central y lateralmente a las partes de afuera de las membranas plasmáticas de los procesos podocíticos [R25], diseñando espacios rectangulares de 4 x 14 nm en la rata [R25], lo que equivale al tamaño de la molécula de albúmina. Consecuentemente, se ha sugerido que estos "poros" podrían constituir una barrera de filtración [R25]. No se conoce la composición química del diafragma, pero parece que tiene considerables cargas negativas. Sin embargo, por otro lado se ha considerado [F11,F8] que los diafragmas son adhesiones especiales parecidos a desmosomas largos y continuos de poca profundidad para mantener los procesos podocíticos en posición y mantener la continuidad de los agujeros epiteliales como una vía de filtración.

Otro constituyente es la sialoproteína podocalixina que es más abundante en los podocitos que en las células endoteliales [K37], y se ha inmunolocalizado estrictamente en la superficie urinaria y no en la basal [56].

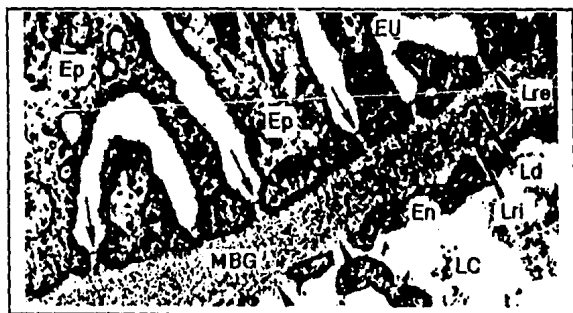


Figura 3.- Micrografía electrónica de la pared capilar glomerular de riñón de rata adulta. Células endoteliales (En), fenestras abiertas (indicadas por las cabezas de flechas), membrana basal glomerular (MBG) dividida en lámina rara interna (Lri), lámina densa (Ld), lámina rara externa (Lre), células epiteliales podocíticas (Ep), diafragmas de filtración (indicada por las flechas), lumen capilar (LC), y espacio urinario (EU) [A26].

Durante la embriogénesis, la MBG es sintetizada por las células endoteliales del lado capilar y por los podocitos epiteliales anclados en el lado urinario [54,W3]. En muchos lugares (fenestras endoteliales, agujeros de filtración epiteliales), la MBG está directamente expuesta a los fluidos corporales o conectada a una matriz mesangial intracapilar, la cual tiene una

composición semejante a la de la MBG y contiene células mesangiales involucradas en la fagocitosis y regulación hemodinámica intraglomerular [K14].

Las células mesangiales no son candidatos primarios para el sitio de la barrera de permeabilidad, ya que no forman una placa continua o una estructura que colinde con todos los capilares, lo cual es un requisito para llevar a cabo este papel. Sin embargo, puede jugar un papel secundario importante en el proceso de filtración debido a las siguientes razones:

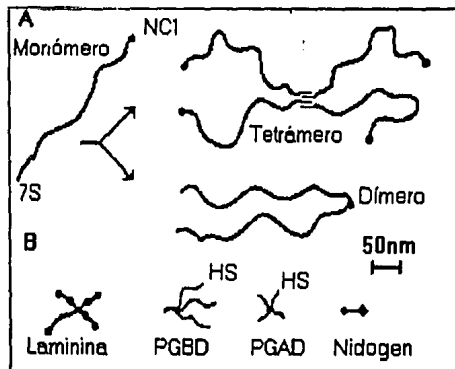
a) Por su capacidad de expandirse, pinocitar y fagocitar son capaces de limpiar la MBG y entonces mantener sus características permeables [F6,L10]. Aparentemente, pueden tomar macromoléculas que entran en la matriz del mesangio [F6,L10].

b) Se piensa que tienen propiedades contráctiles y esto puede regular la distribución del flujo sanguíneo dentro del glomérulo [L10,Z4], posiblemente con importantes consecuencias para la filtración [B8,B7,R13,B51].

Composición de la MBG.

A pesar de que la MBG puede purificarse en cantidades razonables [K58] los estudios estructurales en el tema no han progresado tanto como los estudios utilizando membranas basales de células tumorales. Esto se debe en parte a que hay una gran interacción de los componentes en la MBG [F4] que previene su extracción. Después de reducir los enlaces disulfuro dentro de la MBG en presencia de detergentes, una compleja mezcla de al menos 15 polipéptidos se puede separar y su rango en masa es de 25 a 300 KDa [F25]. Es por esto que se han hecho modelos de los componentes de la membrana basal de las células tumorales y se ha observado que la MBG contiene componentes idénticos o muy semejantes a estos modelos. La membrana basal presenta un grupo de proteínas que forman estructuras supramoleculares altamente integradas y no se encuentran en otros tipos de matrices extracelulares. Estas proteínas incluyen varios componentes que tienen una amplia distribución en la membrana basal así como otros componentes que tienen una distribución restringida (Figura 4). Las proteínas constituyentes de la membrana basal se caracterizan en términos de su tamaño, forma, y composición de las cadenas de polipéptidos y/o glicosaminoglicanos (Figura 4).

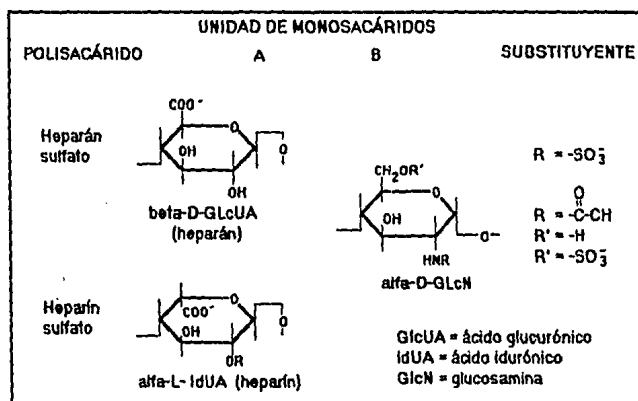
Figura 4.- Componentes de MBG.
 A) Modelos Esquemáticos de colágena de MBG.
 B) Proteínas no colágenas de MBG [T22].
 PGBD = Proteoglicano de baja densidad.
 PGAD = Proteoglicano de alta densidad.



La estabilidad mecánica de la membrana basal se debe a sus largas e insolubles mallas de colágena constituidas por monómeros de colágena tipo IV [K32]. Estos monómeros tienen una forma característica [T12,O3,D29]: parecen una vara de triple hélice que en su extremo COOH tiene un largo dominio globular referido como dominio no colágeno-1 (NC1) [T21], y en el extremo amino otro dominio conocido como dominio 7S, que se une con los mismos segmentos de otras moléculas de colágena IV por alineamiento lateral formando tetrámeros [T12]. Esta estructura está formada por dos cadenas alfa 1 (IV) y una cadena alfa 2 (IV) que se alinean de una manera paralela [T13]. La secuencia de la triple hélice y del dominio NC1 [B1,O2] permiten darle a la triple hélice de colágena IV mayor flexibilidad en comparación a la colágena de forma fibrilar (tipos I,II,III) (Figura 4). Los monómeros de colágena IV interactúan unos con otros de una forma característica durante su ensamble (Figura 4) [T12]. Los tetrámeros están conectados irreversiblemente por enlaces disulfuro entre las cadenas [O3,D29]. Un segundo sitio de interacción en el dominio globular NC1 promueve la formación de dímeros que también están unidos por enlaces disulfuro [T12,W11]. La secuencia con la cual ocurren estas interacciones durante la formación de la malla *in situ* y las estructuras finales formadas, no está bien caracterizada. La función principal de la colágena IV es establecer una superestructura en donde se unen otros componentes de la matriz.

Algunos estudios en tejidos renales demuestran la presencia de estructuras que contienen fragmentos de cadenas alfa 1 (IV), alfa 2 (IV) [T13] y tetrámeros 7S de colágena [R22]. Estos datos demuestran que la colágena IV de la MBG tiene una estructura similar y se ensambla de manera similar a la colágena IV característica en los modelos tumorales, sin embargo, la colágena IV de la MBG tiene una mayor interacción por enlaces no reducibles [R22,W15].

Figura 5. Los polisacáridos se definen como polímeros lineales de monosacáridos alternados tipo A y B [L25].



Los proteoglicanos heparán sulfato (PGHS) son constituyentes de la membrana basal [K6,K5,B63]. Los proteoglicanos están constituidos por glicosaminoglicanos unidos covalentemente a proteínas. Hay diferentes tipos de glicosaminoglicanos, como los heparán sulfato, de ahí el nombre de heparán sulfato proteoglicanos (HSPG). Un glicosaminoglicano es un polisacárido constituido por ácido urónico (ácido L-idurónico y/o ácido D-glucurónico) y residuos de

hexosamina (D-glucosamina o D-galactosamina) (Figura 5). Los heparán sulfatos presentan un porcentaje mayor de ácido D-glucurónico y su constituyente es la D-glucosamina. Presentan grupos carboxilo y grupos sulfato como substituyentes, y de acuerdo con todos estos componentes, presentan un carácter de polianiones. Los glicosaminoglicanos tienen un gran número de funciones entre las cuales se encuentran la unión a macromoléculas principalmente proteínas en donde constituyen los proteoglicanos, unión de microiones, del agua y la regulación de la distribución de macromoléculas por exclusión estérica [L25]. Generalmente, *in vivo*, los glicosaminoglicanos no están como cadenas libres de polisacáridos, sino como proteoglicanos, en donde las cadenas están unidas covalentemente en la parte reducida terminal del azúcar a un polipéptido [L25]. Un proteoglicano típico está constituido por varias cadenas de polisacáridos unidas a un péptido común. Los proteoglicanos interactúan más fuertemente que las correspondientes cadenas individuales de polisacáridos.

Los PGHS pueden separarse en formas pequeñas y de alta densidad, y en formas largas ricas en proteínas de baja densidad (Figura 4). Un modelo estructural para la forma de alta densidad es el de una forma de estrella con cadenas de HS de 30 nm de longitud [F30] (Figura 4). Los de baja densidad poseen una longitud de 60 nm, una estructura de proteína rígida y tres cadenas de HS conectadas a un polo de la estructura.

Además de la función del control de filtración, estos proteoglicanos pueden estar involucrados en múltiples, pero sin embargo, débiles interacciones con otros componentes de la membrana basal, incluyendo colágena IV y laminina [F30]. Hay dos tipos de sitios de unión a la colágena en la molécula de proteoglicano, localizados en la estructura de la proteína y en las cadenas de polisacáridos respectivamente [T20]. La interacción de PG-colágena puede influir en el depósito de fibras de colágena *in vivo* ya que en modelos experimentales se ha visto que los PG tienen dos efectos diferentes en la fibrilógenesis de colágena [O4], retardan el ensamblaje de moléculas de colágena si se presenta tempranamente en el proceso y alteran la organización final de las fibras de colágena.

Los PG de membrana basal son componentes típicos de matrices y difieren de las formas de membrana celular de PGHS en su localización y antigenicidad [D31]. Las paredes de las arterias contienen una variedad de polisacáridos como por ejemplo PGHS, estos están en contacto con los componentes del plasma. Los polisacáridos en las superficies endoteliales celulares HS [B70] pueden influir en la unión selectiva de los componentes del plasma a las paredes de los vasos que están en contacto con la sangre circulante. La membrana basal contiene condroitinsulfato PG como componente [P35]. El glicosaminoglicano predominante en MBG es HS [C38,K53,S58] y aparentemente se tienen cantidades menores de ácido hialurónico [D3], condroitín sulfato y dermatán sulfato [D3,B63], mientras que el mesangio produce condroitín sulfato, sin embargo, las técnicas utilizadas para aislar MBG no permiten afirmar si estos últimos glicosaminoglicanos son componentes de la matriz mesangial y no componentes de MBG.

Los PGHS de MBG están covalentemente unidos con colágena tipo IV [P4] lo cual no se ha reportado para otro tipo de membrana basal. Estudios estructurales de PGHS de MBG [K7,K13] indican una marcada similitud a los modelos de PGHS de alta y baja densidad de la membrana basal de los modelos experimentales con células tumorales. Los componentes de alta densidad de MBG tienen una masa molecular de 130,000 Da y consisten en promedio de cuatro cadenas de heparán sulfato de 26,000 Da conectados a una estructura proteica de 18,000 Da. Un

proteoglicano de baja densidad de MBG contiene 70% de proteína en la estructura proteica a la cual se unen cadenas de heparán sulfato de 14,000 Da [P5], el cual puede corresponder a los PGHS de baja densidad del modelo tumoral de membrana basal.

La laminina [T11] es una de las glicoproteínas no colágenas encontradas en la membrana basal. Consiste de las cadenas B1, B2, y A unidas por enlaces disulfuro para formar una estructura en forma de cruz [E7]. La laminina está constituida por tres polipéptidos: la subunidad más larga de laminina o cadena A tiene una masa molecular de aproximadamente 400,000 Da, y hay dos subunidades pequeñas o cadenas B1 y B2 de aproximadamente 205,000 Da y 200,000 Da respectivamente [H24]. Las cadenas A y B están N-glicosiladas y unidas por puentes disulfuro. Por microscopía electrónica, se asemeja una cruz asimétrica con tres pequeños brazos que miden aproximadamente 35 nm de longitud unidas a un brazo más largo de aproximadamente 75 nm [E7]. Los extremos libres de los brazos terminan en estructuras globulares. La laminina tiene funciones diferentes y algunas de estas se asignan a dominios moleculares específicos [T9]. Es un elemento que une las células epiteliales a membranas basales, se asocia con polímeros a 35°C, y se une a heparina y a colágena IV a través del dominio terminal globular [T9]. Se piensa que la laminina participa en el anclamiento de las células a la MBG ya que se une a sitios específicos de colágena IV polimerizada, así como a las superficies celulares endoteliales y epiteliales. Los extremos de los brazos cortos de laminina se unen a regiones específicas de la colágena tipo IV [C30,R20] y el brazo largo que termina en un dominio con un enlace heparina se une a proteoglicanos heparán sulfato (PGHS) [T10]. La laminina es un elemento integral estructural dentro de la MB.

El nidogen es otra proteína encontrada en membrana basal, tiene en su forma intacta 20 nm de longitud, peso molecular de aproximadamente 150,000 Da [D32], está compuesta por una sola cadena polipeptídica [P6], forma complejos no covalentes con laminina y se une al dominio NC1 de la colágena tipo IV [D32]. No se conoce la función de nidogen, pero, por su habilidad de unirse a la laminina y colágena tipo IV, se cree que puede entrecruzarse y estabilizar diferentes proteínas en la matriz de la membrana basal.

Otra molécula que es considerada como constituyente glomerular es la fibronectina, proteína de 440,000 Da, formada por dos cadenas unidas por puentes disulfuro cerca del extremo carboxilo formando una V. In vivo, existe en dos formas: soluble (en plasma) e insoluble (tejidos). No se sabe si es un componente endógeno de la MBG o un contaminante atrapado durante la filtración [M17], ya que en plasma hay gran cantidad de fibronectina, sin embargo, los que apoyan que es constituyente glomerular proponen que esta fibronectina se origina de las células endoteliales y mesangiales durante la nefrogénesis [S3].

Otro constituyente de MBG es la entactina, glicoproteína sulfatada cuyo PM es 150,000 Da [C9,C10]. Ya que se asocia in vivo con la laminina [C10,H26,H25] se creía que estaba relacionada con esta proteína, pero se ha visto que son genética, inmunológica y químicamente diferentes [C10,C42,K61]. No se conoce la función de la entactina pero debido a su frecuente localización cerca o en la base de las superficies celulares, se cree que sirve como una proteína de unión o de anclaje [C9,W5].

El componente amiloide P es una glicoproteína sérica que se ha inmunolocalizado en la MBG [D30]. Al igual que la fibronectina, no se sabe si este componente es un constituyente de la MBG o bien proviene del suero de donde ha sido atrapado por la matriz de la MBG. No se conoce su función.

Existen discrepancias acerca de la localización de los componentes de la MBG con la técnica de inmunohistoquímica. Los resultados de los diferentes grupos no son homogéneos, así por ejemplo: algunos autores ubican a la colágena IV en toda la MBG [A4,A2,L12], otros en la lámina rara interna [K36], y otros solo en la lámina densa [R26,C46,L12]; así también la laminina se ha localizado en toda la MBG [A4,A2,L12], y en la lámina rara interna y externa [C46,M2,M18]. Aunque la mayoría propone que los PG se localizan en la lámina rara interna y externa [S59,K36,L12], también se han encontrado PGHS en la lámina densa [L12]. Los informes en cuanto a entactina la ubican en toda la MBG [L12], o bien en la lámina rara interna y externa [M18,B22]. La fibronectina se ha localizado en toda la MBG [L12], en la lámina rara interna y externa [C46,L12], o bien únicamente en la lámina densa [L12], incluso algunos autores proponen que la fibronectina está ausente en la MBG. Otros proponen que todos los componentes citados se localizan en la lámina densa [L12].

Las diferencias entre estos resultados podrían deberse a los diferentes métodos de marcaje utilizados o a que reflejan la calidad de las preparaciones de anticuerpos. El uso de anticuerpos monoclonales bien caracterizados en contra de los componentes de MBG permitirá tener una mejor inmunolocalización de estas macromoléculas en la MBG.

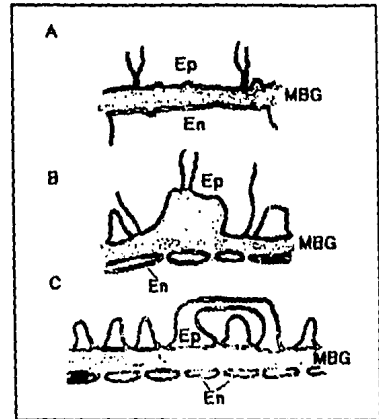
En base a análisis microscópicos inmunoelectrónicos de mezclas de componentes de MB, se ha propuesto un modelo que sugiere que la laminina y los PGHS están embebidos dentro de una malla tejida por colágena tipo IV polimerizada [L11,Y11]. Se cree que las múltiples interacciones entre los dominios de unión de la colágena, heparán y laminina orientan específicamente a estas tres moléculas dentro de la malla. Por otra parte, hay estudios *in vitro* que apoyan este modelo, en donde se muestra que muchas de las moléculas individuales se agregan entre sí y comparten afinidades de unión con otros componentes [T10,K49,W23,K50,Y10,C30].

El estudio de la distribución de las cargas negativas en el glomérulo de mamíferos por medio de técnicas con marcadores catiónicos o electrón opacos, muestra que tienen una distribución asimétrica. El marcaje con policones muestra que las células endoteliales presentan una cubierta celular de aproximadamente 12 nm de grosor cargada negativamente, que cubre por completo las membranas plasmáticas incluyendo fenestras [A25]. Se ha observado que en la lámina rara hay un aumento en la unión de marcadores catiónicos y en la lámina densa estos marcadores disminuyen en concentración [J7,L8,B21,R6,G48,L9,M31,M41,N9]. En las células epiteliales glomerulares, la cubierta polianiónica es de 15-80 nm de grosor en toda la superficie celular incluyendo los poros epiteliales, a excepción de la superficie celular de los podocitos que están dentro de la MBG.

La permeabilidad del glomérulo se modifica por factores fisicoquímicos. Por ejemplo, se ha observado que la ferritina nativa (aniónica, PM=480,000 Da) cuando se perfunde a riñones de rata adulta, está normalmente restringida a nivel de la lámina densa [F11,F10], pero en un estado de desarrollo temprano del riñón, por ejemplo en fetos, ya sea de rata o en humanos, cruza todas las capas de la MBG [V8,B4]. La permeabilidad de la pared capilar glomerular en desarrollo al paso de proteínas grandes depende de factores fisicoquímicos que incluyen el número de fenestras endoteliales, la organización estructural y el contenido bioquímico de la MBG, el área de superficie de los poros epiteliales, la maduración de los diafragmas de los poros, así como consideraciones fisiológicas que abarcan el flujo sanguíneo renal total y la resistencia vascular [H32,H31,L7] (Figura 6).

Considerando a la MBG en particular, la fusión incompleta de la membrana basal y la insuficiente cantidad de cargas aniónicas en los estados tempranos del glomérulo probablemente contribuyen al aumento de la permeabilidad de macromoléculas [R8].

Figura 6.- Ensamblaje de la pared capilar glomerular. A: desarrollo temprano, endotelio cuboidal con pocas ventanas (En), células epiteliales sin procesos podocíticos (Ep), doble membrana basal intermedia producto de ambos tipos celulares, se observa un área de fusión de membrana basal. B: Conforme progresa el desarrollo el endotelio se atenúa y aparecen ventanas abiertas, en el epitelio se forman procesos podocíticos con diafragmas de filtración y continúa con la biosíntesis de la nueva membrana basal glomerular (MBG) debajo de los podocitos. C: la nueva MBG se une a la ya existente por la expansión de lazos capilares conforme concluye la formación de procesos podocíticos [A26].



La MBG está en continuo recambio, por lo que es posible que exista una digestión enzimática parcial de la MBG para que la MBG recién sintetizada se una a la existente. Existen datos acerca del recambio de la colágena de la MBG en ratas, los cuales muestran que la vida media es mayor de 100 días [P31], mientras que anticuerpos en contra de laminina de MBG permanecen unidos a la MBG por varios meses [A2]. Es posible que este recambio dé como resultado un aumento en el área de superficie de filtración.

La unión de la nueva MBG a la vieja durante el asa de expansión capilar probablemente resulta en defectos temporales de permeabilidad local. Por otra parte, también puede presentarse que posibles modificaciones estructurales y de composición de la MBG que se dan durante su desarrollo, continúen dándose cuando el glomérulo madura, lo que resultaría en una menor permeabilidad de la pared capilar glomerular (Figura 6).

En experimentos de inmunolocalización se ha identificado que los PGHS, la laminina y el nidogen están presentes como parches irregulares en las superficies celulares en la etapa de embrión, y que la colágena de tipo IV, la fibronectina y la entactina aparecen poco después con el desarrollo subsecuente [D33, D32]. Además, las cadenas polipeptídicas de laminina B aparecen más tempranamente en el desarrollo, que las de la cadena de laminina A [C41]. Lo que indica que los componentes de la MBG no se secretan como complejos pre-ensamblados, por lo que entonces podrían ensamblarse progresivamente fuera de la célula [C41]. Así se pueden observar cambios morfológicos y moleculares durante el ensamblaje de la MBG ya que experimentos con anticuerpos policlonales y monoclonales que se unen a la MBG de un humano adulto no reaccionan con el glomérulo fetal y de infantes que está en un estado temprano de nefrogénesis, mientras que otros reaccionan con MBG fetal pero no con el glomérulo maduro [J4, M35].

Determinantes de la Filtración Glomerular.

El tamaño, la carga eléctrica, la forma y la configuración de la molécula a filtrarse, las cargas eléctricas, el tamaño y forma de los poros que constituyen la barrera de filtración, así como la hemodinámica glomerular son factores que determinan la filtración glomerular [K14,K16,R16].

Consideraciones fisiológicas:

La metodología de depuración, así como las técnicas ultraestructurales, se han utilizado para evaluar la filtración glomerular de macromoléculas. Las propiedades de permeabilidad del glomérulo y el grado de restricción al paso de diferentes macromoléculas, regulan la filtración glomerular de macromoléculas, la cual se expresa como la depuración fraccional (C_m/C_{in}), que es la proporción de depuración de macromoléculas (C_m) relativo a la depuración de inulina (C_{in}) cuya velocidad de filtración glomerular alcanza la del agua. La depuración fraccional de un valor de cero se da cuando el sistema es impermeable a la molécula, y es de un valor de uno cuando no hay restricción como para la inulina [K16,R16,K14].

La depuración fraccional tiene una relación inversa para el tamaño de la macromolécula (a_e o Einstein Stokes radius (ESR)). Las moléculas con un ESR aproximadamente de 1.8 nm tienen una depuración fraccional de uno y pasan libremente, mientras aquellas con un ESR de aproximadamente 4.0 nm tienen una depuración fraccional de cero y son relativamente impermeables. Esta relación inversa del ESR de moléculas y la depuración fraccional es válida, siempre que otras determinantes de la permeabilidad selectiva permanezcan constantes [D8,R13,R14] como la velocidad inicial del flujo plasmático glomerular (Q_A), la diferencia de la presión hidráulica transcápilar (ΔP), la concentración sistémica de proteínas (arteriolar) (C_A), y el coeficiente de ultrafiltración capilar glomerular (K_f). La depuración fraccional varía inversamente con cambios en Q_A y ΔP , y tiene una relación directa con C_A y K_f . Con estas cuatro determinantes de selectividad en equilibrio, el "tamaño de poro" aproximado teórico de la unidad de ultrafiltración es equivalente al tamaño de la molécula impermeable.

Tamaño molecular:

El efecto del tamaño molecular en la permeabilidad puede estudiarse determinando la depuración fraccional de moléculas no cargadas de diferente tamaño como dextranses o polivinilpirrolidona (PVP). Estos marcadores se administran a los animales normales junto con inulina, y se determina su depuración en muestras de plasma y orina seguida de la filtración en gel para separar moléculas de acuerdo a su tamaño. La depuración fraccional de las moléculas disminuye progresivamente con el aumento del tamaño molecular (a_e) [B57,C27,R13]. En ratas normales el glomérulo no restringe apreciablemente moléculas de dextrán menores de 20 Å de tamaño, por el contrario la depuración fraccional de moléculas cuyo tamaño es igual o mayor a 40 Å es cero. La depuración de proteínas de diferente tamaño sugiere un efecto del tamaño molecular en la filtración, sin embargo, otros factores moleculares como la carga, también influyen.

A una depuración fraccional de cero, el tamaño de la molécula prueba puede tomarse como el tamaño de poro aproximado de la barrera de filtración. El tamaño del poro varía desde el tamaño de la albúmina ($a_e=3.55$ nm) o más grande (4-6 nm) basándose en la depuración de proteínas globulares, en dextranses y PVP [K16].

Para caracterizar las propiedades de filtrado molecular de la pared capilar glomerular

(PCG) humana normal, a 20 voluntarios se les infundió una preparación de dextrans neutros de diferentes tamaños y se observó que al aumentar el tamaño se restringía el paso de dextrans progresivamente (Figura 7), hasta llegar a una depuración fraccional de 0 con dextrans de 60 Å. Este perfil que se presenta en el hombre se ha visto también con dextrans neutros y PVP en otras especies de mamíferos tales como la rata [32], el perro [37], y el conejo [16].

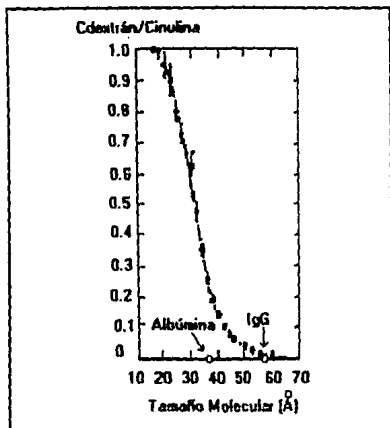


Figura 7.- Perfil de la depuración fraccional de dextrans de la pared capilar glomerular normal en el humano (n=20). La depuración fraccional de dextrans es trazada como una función del ESR del dextrán. El ESR de la albúmina e IgG en la rata (O) se muestran para comparación [K31].

Carga neta molecular:

La carga eléctrica neta de la molécula es una determinante importante de su depuración fraccional. Para moléculas de dextrán con tamaño similar, la depuración fraccional de dextrans neutros es mayor que para dextrans aniónicos (dextrans sulfato) y menor comparada con los dextrans catiónicos (dietilaminoetil dextrans). Para dextrans catiónicos, neutros y aniónicos con tamaño molecular de aproximadamente 2.6 nm (20-30 Å) tienen valores de depuración fraccional de 0.87, 0.60, 0.06, respectivamente [B23,B50,B57,B58,D8] (Figura 8).

Se acepta que existe un efecto de la carga eléctrica en la depuración fraccional de moléculas con un amplio intervalo de tamaño pero tiende a desaparecer cuando los valores de ESR son mayores de 4.2 nm (42 Å) y menores de 2.0 nm (20 Å).

Una relación similar de carga eléctrica con depuración fraccional se ha observado para proteínas globulares como la peroxidasa de rábano (POR) ($\alpha_n = 2.8-3.1$ nm) [W13,R17] y seroalbúmina [P34]. La depuración fraccional de POR catiónica (aprox. 0.338) es mayor que para la POR neutra (aprox. 0.061) y que para la POR aniónica (aprox. 0.007).

La excreción renal de albúmina humana cationizada ($pI=7.2-8.2$) en ratas normales excede a aquella de la albúmina aniónica nativa no modificada ($pI=4.9$) por un factor de 300 [P34], paralelamente a esto, hay un aumento en la filtración de albúmina de rata [P34]. Lo que indica que se produce una interacción entre la albúmina catiónica administrada exógenamente y el filtro glomerular, resultando en la neutralización de los polianiones glomerulares, probablemente lo que disminuye la restricción basada en la carga de la propia albúmina de la rata y su consecuente filtración. Efectos similares se han observado con la neutralización parcial de los sitios aniónicos glomerulares de la rata por la administración del polication hexadimetribromo [H45].

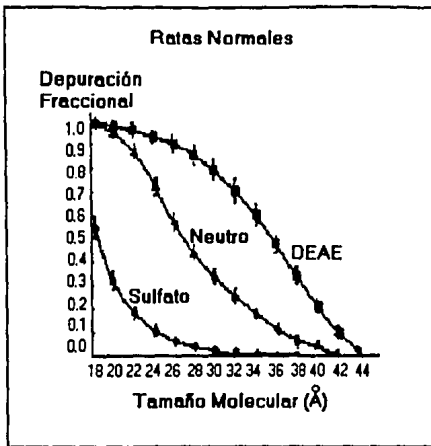


Figura 8.- Depuración fraccional de dextranos catiónicos (dietilaminoetil, ■), dextranos neutros (●) y dextranos sulfato aniónicos (○), en ratas normales como una función del tamaño molecular. La relativa depuración de dextranos con un intervalo de tamaño molecular entre 20-30 Å es la siguiente: DEAE>dextran neutro>>dextran sulfato. En el eje de las ordenadas se representa la depuración fraccional y en el de las abscisas se representa el tamaño molecular (Å) [K14].

Existen descripciones teóricas del transporte de macromoléculas a través de la pared capilar glomerular y están basadas en el concepto del movimiento de solutos a través de poros llenos de agua [P1]. Utilizando estos análisis teóricos y la información obtenida de la filtración de dextranos neutros y de diferente tamaño a través de la pared capilar glomerular normal en el humano, se han postulado modelos en los que el transporte se lleva a cabo a través de un gran número de poros cilíndricos e idénticos con un tamaño de 50-55 Å [B50,W22]. La aplicación de datos de filtración de dextranos y PVP de rata, perro, y conejo a la misma teoría de los isoporos, revela valores similares para el tamaño de poro en estas especies.

Forma y configuración de las moléculas:

El tamaño de poro estimado para proteínas globulares no deformables como albúmina ($a_g=3.6$ nm) difiere un poco al calculado para los polímeros deformables flexibles ramificados como dextranos o PVP ($a_g=4-6$ nm) [R13,R14]. La diferencia entre estas moléculas con un tamaño de poro semejante se ha atribuido a sus configuraciones moleculares diferentes y a su carga neta en condiciones isoosmolares. La influencia de la configuración molecular en la depuración fraccional se observó aún con moléculas que presentan carga eléctrica similar [R19]. Por ejemplo, peroxidasa de rábano y dextranos neutros con un tamaño molecular similar (28.45 Å de tamaño) y con carga eléctrica neta ($pI \sim 7.4$) presentan valores de depuración fraccional de 0.068 y 0.483 respectivamente. El alto paso transcápilar de los dextranos neutros relativo al de POR se atribuye a que los polímeros lineales como los dextranos y PVP presentan configuraciones en espiral en una solución libre, pero no están ligados internamente, y que son susceptibles a deformarse y desenrollarse cuando están sujetos a presión. En experimentos de laboratorio utilizando geles para la filtración de moléculas, el tipo de fuerzas que pueden deformar moléculas de dextrán son mínimas durante la filtración en gel, pero deben operar en la filtración glomerular durante la cual una gran proporción de moléculas filtradas pasan al espacio urinario. Durante esta migración forzada, los polímeros lineales flexibles, como el dextrán, se comportan como moléculas de pequeñas dimensiones y posiblemente se mueven a través de la matriz del gel con movimientos ondulantes que permiten su gran permeabilidad comparado con las proteínas [R19].

Carga, tamaño y forma de los poros de la barrera de filtración:

Se cree que el número y tamaño de las ventanas del endotelio glomerular regulan el acceso del plasma a la MBG lo que influye en el control de la función de la barrera glomerular [F9]. No se conoce la estructura geométrica precisa de la MBG y de las cubiertas celulares epiteliales y endoteliales por lo que no se puede determinar la relación exacta de los "poros" de dimensiones definidas dentro de la MBG y su permeabilidad.

Se piensa que las células epiteliales y los diafragmas de filtración, juegan un papel importante en la función de la barrera. Debido a que las dimensiones de los poros de los diafragmas son aproximadamente del tamaño y forma de la albúmina sérica, se ha sugerido que los diafragmas juegan un papel en la restricción al paso de moléculas de un tamaño similar o mayor que la albúmina [R25]. Las moléculas retenidas en este lugar son atrapadas por las células epiteliales vía pinocitosis por medio de vesículas pinocíticas que se forman en la parte basal de los procesos podocíticos [F7,R20,V7].

Los espacios dentro de las cadenas de glicopéptidos y PG de la MBG así como las cubiertas celulares son canales potenciales para el agua y el transporte de solutos a través del filtro. La entrada de macromoléculas a estos espacios depende de interacciones estéricas así como electrostáticas. El efecto del tamaño molecular en la entrada de macromoléculas en el gel puede explicarse ya que el volumen de agua disponible para un soluto dado dentro de la matriz del gel depende del tamaño de los "espacios" dentro de la malla de gel y del soluto. Si el tamaño del poro es constante, como podría esperarse para el filtro glomerular bajo condiciones de equilibrio, la fracción de moléculas que pueden entrar en el gel disminuirá con el aumento del tamaño de las moléculas. En contraste con las moléculas relativamente rígidas, las moléculas flexibles y deformables pueden entrar potencialmente al gel "de punta" en gran número, este efecto es causado por la deformación molecular debida al arrastre del agua que fluye a través de la matriz del gel [R16].

Las moléculas del mismo tamaño, pero de diferente carga, neta son también atraídas o repelidas por las fuerzas electrostáticas generadas por los componentes cargados negativamente que constituyen la barrera de filtración. Para las moléculas cargadas negativamente, los "poros" en el gel son fundamentalmente angostos, en contraste, se facilita la entrada de moléculas cargadas positivamente. Esto explica las marcadas diferencias en la filtración glomerular de macromoléculas con carga diferente [B50,C25,R18].

Para las moléculas de un tamaño, forma y carga definidos hay restricciones en el nivel de los diafragmas de filtración y por la pinocitosis de los podocitos, que actúan en conjunto con efectos funcionales bien definidos atribuibles a la dinámica del flujo hidráulico, estas interacciones entre la molécula y el filtro resulta en la exclusión de la albúmina y otras proteínas plasmáticas grandes del espacio urinario [R16].

Hemodinámica:

La filtración glomerular normal de macromoléculas ocurre por conducción y difusión. La depuración fraccional de macromoléculas muestra una relación inversa a la filtración del agua (velocidad de filtración glomerular o VFG). Algunas consideraciones teóricas indican que la filtración glomerular de moléculas que son transportadas se verá influenciada por los determinantes de la VFG [C26].

Los factores que determinan en parte la VFG son la presión de filtración efectiva y el flujo plasmático glomerular. La disminución en uno o ambos factores puede causar una disminución en la VFG, con una relativa disminución en la conducción y un aumento en la difusión de las moléculas a través del filtro, por el contrario, el aumento en uno o ambos factores producirá el efecto opuesto [P2]. De acuerdo a estas predicciones, el aumento en la velocidad de flujo plasmático glomerular resulta en la disminución de la depuración fraccional de una molécula debido a que la filtración del agua aumenta más que la del soluto.

Estudios Ultraestructurales.

Se han utilizado una gran variedad de marcadores para determinar el nivel de restricción en la barrera de filtración normal (Tabla 1).

Tabla 1
Localización de Marcadores en la Barrera Glomerular

Marcador	pI	Tamaño molecular (nm)	Sitio de retardo y Referencia.
Ferritina (nativa)	4.5	6.1	Lamina rara interna (LRI) de MBG y endotelio [F8].
Albumina sérica	4.7	3.6	LRI de MBG, endotelio [R37].
Catalasa	5.7	5.2	MBG y diafragmas de filtración [V5].
Dextranes	~7.4	polidis- persos.	En MBG [C19].
POR	7.4	3.0	Ligero retardo por la MBG, escapan dentro del espacio urinario [V6,G35].
Ferritina (catiónica)	>8.0	6.1	MBG y diafragmas de filtración [R15].
Lactoperoxidasa	8.0	3.8	Diafragma de filtración [G37].
Mieloperoxidasa	10.5	4.4	Diafragma de filtración [G35].

Tomado de la referencia [R14].

Los primeros estudios en ratas se llevaron a cabo con ferritina nativa (aniónica) que es una molécula grande ($a_r=6.1$ nm). Cuando esta se administra i.v., su paso es restringido al nivel de las fenestras endoteliales y de la LRI de la MBG, por lo que se propuso que la MBG era la parte de la barrera de filtración que restringía el paso de macromoléculas [F8]. Resultados similares

se obtuvieron con otros marcadores como el oro coloidal [F5], albúmina agregada [M32], y globina [M29], así se postuló la hipótesis de la "barrera simple", que consideraba a la MBG como la barrera exclusiva del paso de macromoléculas.

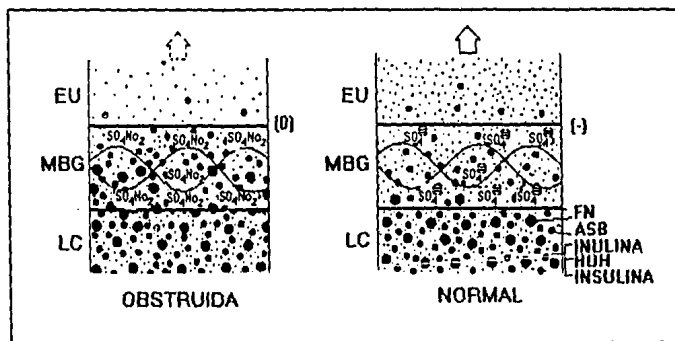
Cuando se utilizaron in vivo los marcadores peroxidicos como POR ($a_e=3.0$ nm), lactoperoxidasa ($a_e=3.8$ nm), mieloperoxidasa ($a_e=4.4$ nm), y catalasa ($a_e=5.2$ nm) se propuso una segunda hipótesis llamada "barrera doble". En esta hipótesis se postuló que la MBG restringía el paso de moléculas grandes, mientras que los diafragmas de filtración regulaban el paso de moléculas pequeñas al espacio urinario ya que se observó que la POR ($a_e=3.0$ nm) cruzaba la unidad de filtración y pasaba al espacio urinario [G35], la lactoperoxidasa ($a_e=3.8$ nm) y mieloperoxidasa ($a_e=4.4$ nm) [G35,G37] se localizaban bajo los diafragmas de filtración, y la catalasa ($a_e=5.2$ nm) [V5] mostraba un gradiente de concentración con una concentración menor debajo de los diafragmas de filtración. Para explicar la localización diferente de marcadores de peroxidasa grandes (a_e en un rango de 3.8 a 5.2 nm) debajo de los diafragmas de filtración y la localización de la ferritina ($a_e=6.1$ nm), también una molécula grande, en la MBG, se tomó en cuenta que las diferentes cargas eléctricas de las moléculas pudieran influir en su movimiento a través de la MBG [V6]. Para comprobar esto, se hicieron dos tipos de estudios con dextranes neutros de diferente peso molecular [C19] y con ferritina del mismo tamaño, pero con diferentes puntos isoelectricos [R15]. En el primer estudio se prepararon fracciones de dextranes de 32,000 Da, 62,000 Da y 125,000 Da, que se inyectaron i.v. a ratas y se observó que las concentraciones urinarias eran en orden de mayor a menor concentración de 32,000 > 62,000 >> 125,000, sin embargo, al no visualizarse los gradientes de dextranes en la MBG por esta técnica, se utilizó la segunda que permitiría la localización precisa de las moléculas por microscopía electrónica de transmisión. Para este estudio se prepararon diferentes fracciones de ferritina ($pI \sim 4.9$) del mismo tamaño pero con puntos isoelectricos desde 4.5 a 11.5, se perfundieron en el riñón in situ bajo condiciones isoosmolares e isotérmicas y se observó que a mayor punto isoelectrico se aumentaba la permeabilidad de la molécula en la MBG. Es decir, que se facilitaba el paso de las moléculas de ferritina con un PI alto las cuales se localizaban por debajo de los diafragmas de filtración, obteniéndose así, por primera vez, evidencia de que la MBG, bajo condiciones isoosmolares, presentaba una carga eléctrica dada por sitios aniónicos [R15]. Esto explicaba por qué la migración de marcadores peroxidicos presentaba un comportamiento migratorio aparentemente anormal ya que estos marcadores con diferentes puntos isoelectricos estaban influenciados por los sitios aniónicos de la MBG [V6]. De esta manera se concluyó que la MBG es la mayor barrera de selección de tamaño y carga del glomérulo, por lo que se confirmó la primera hipótesis de que la MBG es la barrera de filtración primaria [C19,F11].

Los sitios aniónicos en la MBG están dados por PGHS [K6], que, como se mencionó anteriormente, se han localizado en la lámina rara interna y externa de la MBG [C16,K3,S17]. Se han hecho experimentos in vivo e in situ que confirman la influencia de la carga eléctrica de los PGHS, dentro de la MBG normal, en la permeabilidad de proteínas nativas aniónicas como albúmina y ferritina [K9,R31]. Se han neutralizado las cargas de los PGHS por infusión/perfusión de policationes como protaminsulfato [K34], hexadimetrín bromo [H44] y polietilenimina [B9] o bien por degradación enzimática de los PGHS tratados con heparinasa o heparitinasa [K9,R31]. La neutralización de la carga aniónica de la MBG con policationes resulta en un aumento en la excreción urinaria de albúmina e IgG [H44,V3] y una permeabilidad acentuada de partículas de ferritina aniónica dentro de la MBG [B9,K34]. La pérdida en la orina de moléculas neutras como IgG

indica un defecto en la selección de tamaño de la MBG. Cuando los PGHS son degradados por medio de enzimas y el riñón se perfunde *in vitro* con marcadores bajo condiciones fisiológicas, se observa que la ferritina nativa ($pI \sim 4.9$, $a_c = 6.1$ nm) penetra en las capas profundas de la MBG, la ferritina catiónica ($pI \sim 7.4$, $a_c = 6.1$ nm) forma un gradiente de partículas a través de la MBG y pocas partículas alcanzan los diafragmas de filtración de una manera similar como sucede con la ferritina aniónica, es decir, después del tratamiento enzimático la MBG no es capaz de distinguir entre marcadores catiónicos y aniónicos [K9].

Se ha observado que la neutralización progresiva de las cargas aniónicas de la MBG mediante el aumento de la concentración molar del líquido de perfusión hasta 1 M [K12], aumenta la penetración de la ferritina nativa en la LRE; sin embargo, al aumentar la molaridad del líquido de perfusión se observa una disminución de la ferritina nativa acompañada de la reducción en la depuración de inulina tritiada (3H -inulina), indicador de la VFG. Además, el paso de insulina marcada (^{125}I -insulina, $PM=6000$ Da) una molécula libremente permeable se restringe al nivel de la MBG. Esto sugiere que cuando la carga eléctrica de la MBG se neutraliza, las proteínas aniónicas como ferritina, albúmina, insulina se adsorben sobre la MBG al formar enlaces de hidrógeno y entonces obstruyen el filtro y reducen el flujo del agua y solutos a través del capilar glomerular [K12]. Bajo condiciones normales isoosmolares los PGHS actúan como agentes antibloqueantes (por repulsión de cargas) al prevenir las uniones de hidrógeno y la adsorción de proteínas plasmáticas, así puede continuar el flujo a través de la MBG (Figura 9).

Figura 9.- A: Se observa que la perfusión de ferritina nativa (FN ●), albúmina sérica de bovino (ASB *), e insulina (·) en un vehículo de molaridad fisiológica, las cargas negativas y las propiedades de los glicosaminoglicanos del tipo heparán sulfato (GAG's HS) para formar un gel en la MBG, restringen el paso de macromoléculas en base a tamaño y carga, así la FN



no alcanza el espacio urinario (EU). La insulina ($ESR < 18$) pasa libremente a través de la MBG desde el lumen capilar (LC) hacia el espacio urinario.

Las fuertes cargas negativas de los grupos sulfato (SO_4^-) de los GAG's HS de la MBG la protegen de ser obstruida, ya que los grupos sulfato permanecen hidratados y previenen las interacciones hidrofóbicas entre los GAG's y las macromoléculas como FN, ASB e insulina, lo que provoca una VFG normal.

B: En contraste, la neutralización de la carga aniónica produce la anulación de la barrera de carga de los SO_4^- de los GAG's de la MBG, provocando un aumento en la acumulación de macromoléculas en la obstrucción de la MBG y una reducción en la permeabilidad de la MBG a las moléculas libremente filtradas como la insulina, así como en la VFG [K14].

Todas las consideraciones anteriores muestran que la función normal de la barrera glomerular depende de la interacción de varios factores, alguna anomalía en estos factores produce una alteración funcional de la barrera. Entonces, la proteinuria puede ser el resultado de aberraciones funcionales, defectos estructurales, o anomalías bioquímicas en la barrera de filtración, o una combinación de estas.

Generalidades del Síndrome Nefrótico

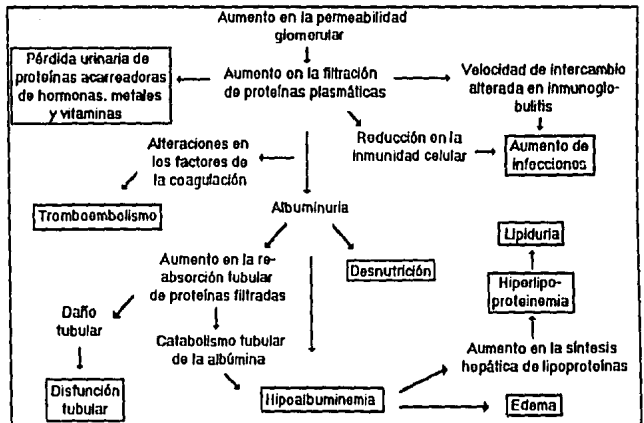
La proteinuria fue descrita por primera vez junto con el edema en 1770 por Domenico Cotugno (1736-1820) [C45]. Sin embargo, la hidropesía se ha conocido desde tiempos antiguos e Hipócrates describió la albuminuria sin conocer su causa. El crédito de la primera descripción del SN se le ha dado a Richard Bright (1789-1858) quien hizo una completa descripción del SN en sus Reportes de Casos Médicos de 1827 [B61]. Su colega John Bostock (1773-1846) cuantificó las proteínas en orina y suero de pacientes nefróticos con métodos dependientes de la gravedad específica notando que a mayor proteinuria, una cantidad menor de albúmina estaba en la sangre. En 1830 se estableció que el SN se caracterizaba por albuminuria, hipoalbuminemia y edema como consecuencia de la pérdida de proteínas en la orina secundaria a enfermedad renal.

Síndrome Nefrótico

El síndrome nefrótico (SN) se caracteriza por proteinuria, albuminuria, hipoalbuminemia, hipercolesterolemia, hiperlipoproteinemia, hiperlipidemia, anormalidades en la coagulación, alteraciones inmunológicas de tipo humoral y celular, aumento en la susceptibilidad de infecciones, edema, retención de sodio y alteraciones en la concentración de casi todas las proteínas plasmáticas como consecuencia del aumento en la filtración de proteínas plasmáticas a nivel glomerular [B29].

[024.H39.S13] (Figura 10).

Figura 10.- Alteraciones metabólicas en el SN producidas por el aumento en la permeabilidad glomerular [B29].



El SN puede ser de dos tipos:

- 1) Primario
- 2) Secundario.

1) Al SN primario también se le conoce como Idiopático, de Cambios Mínimos (SNCM), Enfermedad de Cambios Mínimos (ECM), Nefrosis Lipóidica, enfermedad de procesos podocíticos, enfermedad de nil, síndrome nefrótico de respuesta a esteroides [024], nefropatía de cambios mínimos, glomerulopatía de cambios mínimos, así como combinaciones de éstos términos [H39]. Sus causas se desconocen, pero en algunos casos puede ser congénito. Generalmente es sensible a corticoesteroides; y los casos que no responden a corticoesteroides progresan hacia glomeruloesclerosis focal segmentaria (GEFS).

El SN idiopático se observa en adultos y niños, sin embargo parecen existir amplias diferencias en la prevalencia. Así, en adultos, la proteinuria en un intervalo nefrótico se considera generalmente como aquella que excede 3-3.5 g/24 hr y para los niños de 1.66 g/24 hr. La albúmina en el suero de niños en el 90% de los casos con enfermedad de cambios mínimos (ECM) es de 2.0 g/dl o menos [H1], mientras que en los adultos el 50% de los casos presentan 2.0 g/dl de albúmina en suero [C5]. Existe otra diferencia entre adultos y niños con ECM ya que un gran porcentaje de niños con ECM presentan una alta selectividad en la proteinuria, en los adultos la proteinuria es menos selectiva aunque no se sabe si esto refleja diferencias en el proceso de la enfermedad o simplemente es un efecto de la edad.

El SNCM se presenta principalmente en niños menores de quince años (50%-80%) [S13,H39] y la mayoría de las veces éste remite espontáneamente ó bien en respuesta a esteroides. En adultos mayores de 40 años la prevalencia de la ECM disminuye a 10%-15% [024,H39]. La ECM es la forma principal del SN idiopático y se asocia con las características citadas anteriormente. Visto por microscopía de luz, el glomérulo aparece esencialmente normal, de aquí el nombre de ECM; sin embargo por microscopía electrónica se observa un enmascaramiento difuso de los procesos podocíticos de las células epiteliales, algunas veces asociado con desprendimiento de las células epiteliales, produciéndose áreas desnudas de membrana basal glomerular (MBG). Los cambios vistos por microscopio electrónico revierten a normales con la remisión de la proteinuria. La ECM será descrita detalladamente a lo largo de esta tesis.

2) El SN secundario es consecuencia de otras enfermedades ó alteraciones sistémicas como lupus eritematoso, púrpura, nefritis progresiva hereditaria, diabetes mellitus, alergias a leche o polen, enfermedades neoplásicas como linfomas, tumores sólidos de diversos tipos pero especialmente aquellos de pulmón, estómago, colon, y carcinoma celular renal [024]. El SN también puede ser secundario a malaria, sífilis, varicela, glomerulonefritis, GEFS, drogas como penicilamina, mercurio, trimetadiona [024], y a infecciones virales [B10,B11,S37], bacterianas, parasíticas y protozoáticas [024]. La frecuencia de estas últimas infecciones depende de la geografía y de otros factores. Por ejemplo, en el oeste de Africa se presenta en niños y adultos debido a la malaria, en Egipto por la esquistosomiasis y en algunas partes de la India por la lepra [024].

Las características patológicas del SN no son uniformes en el mundo, por ejemplo, los niños africanos nefróticos presentan una lesión estructural glomerular clara vista con microscopía de luz y no responde a esteroides [C43], mientras que la mayoría de los niños de países del oeste muestran cambios glomerulares estructurales mínimos y presentan una respuesta a la terapia con corticoesteroides [B11].

La distribución geográfica del SN no es específica, se distribuye en todo el mundo, no hay una correlación entre el estatus socioeconómico, el grupo étnico y la incidencia del SNCM [B10,B11]. Se ha estimado que hay de 2 a 7 casos nuevos de SN diagnosticados anualmente por cada 100,000 niños menores de 16 años en el mundo [H39]. Se ha documentado que la incidencia del SN en América Latina es baja [R21]. En México no existen estudios epidemiológicos que nos informen de la incidencia de ésta enfermedad. El curso del SN en México se presenta de una manera relativamente benigna y coincide con otros informes ya que el 85% de los enfermos presentaron función renal normal en el momento del diagnóstico y el 21.4% desarrolló insuficiencia renal crónica (IRC)[D22]. El 75% de los pacientes con glomerulonefritis de tipo idiopática fué de sexo masculino, por lo que hay una mayor probabilidad de pronosticar insuficiencia renal (IRC) en pacientes de sexo masculino dependiendo de la gravedad del SN [C44]. Se ha reportado que en el humano, el SN puede darse en ausencia de insuficiencia renal durante varios años [W20].

El tratamiento con esteroides del tipo de la prednisona y metilprednisona provocan remisión del SN aunque los adultos son más susceptibles que los niños a complicaciones secundarias al tratamiento [G23,R27]. La ciclofosfamida y el clorambucil son eficientes en el tratamiento del SN pero presentan efectos colaterales como leucopenia y alopecia, la remisión por clorambucil puede ser más estable [L23,W19]. La combinación de clorambucil con metilprednisona aumenta la incidencia de la remisión, disminuye la intensidad del SN y evita su evolución hacia IRC [P22]. La indometacina (antiinflamatorio no esteroide) ha dado resultados variables y puede provocar IRC [K48]. La ciclosporina A se emplea en casos que no responden a esteroides [T4]. Aún hay controversia en relación a cuál es el mejor tratamiento ya que también se ha informado que no hay diferencia significativa en la remisión del SN o en la evolución hacia IRC entre pacientes que reciben o no tratamiento [D22].

La causa primaria del aumento en la filtración glomerular de proteínas plasmáticas en el SN es la alteración en la barrera de filtración glomerular, la cual está constituida por glicoproteínas (GP) y heparán sulfato proteoglicanos (HS-PG), los cuales le confieren la característica de ser una barrera de cargas negativas, y una barrera de tamaño, ya que es selectiva al paso de moléculas de bajo peso molecular. Los cambios estructurales de la barrera así como la hemodinámica glomerular son determinantes de la velocidad de filtración glomerular.

Como consecuencia de la pérdida de la barrera de filtración glomerular en el SNCM, se observan anomalías sistémicas tales como: alteraciones en la concentración de proteínas, lípidos, elementos celulares y de iones tanto en sangre como en orina. Estas alteraciones en los niveles de estos componentes se deben a cambios en la síntesis, degradación, distribución y/o secreción (ya sea que se encuentren aumentados o disminuidos) de diversas proteínas plasmáticas, las cuales se inician por el aumento en su permeabilidad glomerular [B10,B11,G24,S13]. Las alteraciones metabólicas del SN secundarias a las alteraciones arriba mencionadas son las siguientes [B29] (Figura 10):

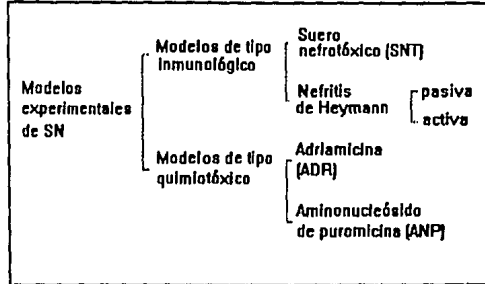
- 1) Pérdida urinaria de proteínas transportadoras de hormonas, iones metálicos, y vitaminas.
- 2) Tromboembolismo.
- 3) Aumento de infecciones.
- 4) Hipoalbuminemia.
- 5) Edema.
- 6) Hiperlipoproteinemia.

- 7) Lipiduria.
- 8) Desnutrición.
- 9) Disfunción tubular.

Se han desarrollado modelos experimentales del SNCM en donde se han llevado a cabo muchos estudios de la fisiopatología de esta enfermedad.

Existen modelos de SN muy estudiados y se pueden dividir de acuerdo al mecanismo que lo origina en: mecanismos inmunológicos y quimiotóxicos (Figura 11) [H23].

Figura 11.- Mecanismos inmunológicos y quimiotóxicos utilizados como modelo experimentales de SN.



Modelos experimentales de síndrome nefrótico.

I) Modelo de tipo inmunológico.

Glomerulonefritis inducida por anticuerpos dirigidos contra antígenos glomerulares.

1) Nefritis por suero nefrotóxico (SNT):

En 1900, Lindemann [H23] introdujo este modelo que provoca glomerulonefritis por medio de la unión de un anticuerpo heterólogo a antígenos de membrana basal glomerular (MBG) lo que resulta en un patrón de depósito lineal por inmunofluorescencia e inmunoelectromicroscopía, en donde se observa que la cantidad de complejos antígeno-anticuerpo es proporcional a la severidad de la enfermedad.

El anticuerpo heterólogo se obtiene al inyectar un homogenado de riñón de rata a un conejo, el conejo forma anticuerpos contra los antígenos del riñón de rata. El anticuerpo heterólogo IgG obtenido del conejo se inyecta a un animal experimental (rata), éste desarrolla una fase autóloga en la cual se forman anticuerpos dirigidos en contra de las IgG inyectadas que se han unido a los antígenos de la MBG, produciéndose una lesión de manera directa. La lesión de manera indirecta se desarrolla después de la inyección de anticuerpos, cuando los macrófagos y los neutrófilos son atraídos por complementos activos a la zona de MBG afectada por las IgG inyectadas y los anticuerpos dirigidos contra éstas.

El suero nefrotóxico actúa en dos fases:

1era fase.- Ocurre inmediatamente después de la inyección del suero nefrotóxico heterólogo, el suero reacciona con los antígenos del glomérulo y se produce acumulación de leucocitos en esta zona. El número de leucocitos es proporcional a la proteinuria [C33].

2da fase.- Es el resultado de la producción de anticuerpos por parte de la rata y de su

unión a los anticuerpos provenientes del SNT de conejo, los cuales se encuentran unidos a los antígenos glomerulares de la rata. Esta etapa empieza días después de la inyección del SNT y termina de tres a cuatro semanas después de la inyección, posiblemente en esta semana se detiene la producción de anticuerpos de la rata contra el suero de conejo. En esta segunda fase la proteinuria aumenta rápidamente [A7].

El SN por SNT se caracteriza por un influxo de leucocitos polimorfonucleares, plaquetas y macrófagos a la zona afectada en la MBG, con una proliferación extracapilar de grado variable asociada con depósitos de fibrina [H23]. También se caracteriza por alteraciones hemodinámicas y captación de macromoléculas por las células mesangiales.

Las alteraciones hemodinámicas que se presentan involucran la reducción de la velocidad de filtración glomerular (VFG), de la velocidad de flujo plasmático y del coeficiente de ultrafiltración glomerular. Se presenta un incremento en la presión capilar glomerular (PCG) como posible adaptación a la reducción del coeficiente de ultrafiltración glomerular capilar [M1]. La captación de macromoléculas por las células del mesangio se debe a factores intrarrenales más que a alteraciones en el ambiente celular del huesped secundarias a efectos extrarrenales. La función fagocítica de las células mesangiales se ha demostrado por la incorporación de macromoléculas como el carbón coloidal en la nefrosis con SNT en conejos y ratas [H40]. La captura del carbón coloidal por las células mesangiales es mayor en riñones perfundidos con el SNT en comparación con su riñón control que presenta el mismo microambiente del huesped. alteraciones de las células del mesangio se observan a nivel de microscopía de luz, y electrónico y por inmunofluorescencia. Aún no se ha correlacionado la proteinuria y la alteración en las células del mesangio en enfermedades renales, ya que el aumento en la captura del carbón por el mesangio no se relaciona con la magnitud de la proteinuria.

El suero nefrotóxico induce glomerulonefritis en ratas [H16], ratones [A24], monos [B14], pollos [B52], coballos [C48], conejos [L19] y borregos [S53]. Se han observado diferencias en ratas cuando el SN se produce por SNT obtenido de patos y de conejos. En ratas, el periodo de latencia después de la inyección con el SNT obtenido de patos es de 3 a 21 días, el 52% de los casos termina en insuficiencia renal [H16], mientras en ratas inyectadas con SNT obtenido de conejos no hay periodo de latencia, hay una recuperación espontánea en 30% de los casos y solo el 3.25% de los casos presentan insuficiencia renal [H17]. En base a lo anterior podría pensarse que las características del SN en ratas producido por SNT son especie específicas de la fuente de obtención del SNT, así como de los animales experimentales en los que se induce el SN.

La administración de cortisona inmediatamente después de que las ratas se inyectan con suero antirriñón de pato, previene la enfermedad renal o minimiza sus efectos, probablemente debido a la depresión de la formación de anticuerpos [W1]. Esta observación está apoyada por otro estudio en el que la dosis de rayos X en ratas inhibe la formación de anticuerpos para un antígeno introducido al menos 24 horas después de la radiación [F21].

2) Nefritis de Heymann:

Existen dos formas de esta nefritis: la nefritis pasiva de Heymann [H17] y la nefritis activa de Heymann [H15]. La mayoría de las veces no se especifica y se habla simplemente de nefritis de Heymann pero ésta se refiere, generalmente, a la nefritis de tipo pasivo.

a) Nefritis pasiva de Heymann.- Consiste en aquella glomerulonefritis provocada por una respuesta autóloga contra anticuerpos heterólogos. La nefritis pasiva de Heymann se induce en

ratas al inyectarles anticuerpos contra antígenos del tipo Fx1A de riñón de rata obtenidos de conejos.

b) Nefritis activa de Heymann.- Es aquella producida por una respuesta autoinmune. Esta glomerulonefritis se obtiene de la inmunización de ratas con homogenados de riñón de rata, en este caso lo que se inyecta a la rata son antígenos homólogos.

El SN asociado a estos dos tipos de nefritis, se caracteriza por ser una reacción de tipo no inflamatoria y, por la agregación inmune in situ en el lado epitelial de la MBG. Se piensa que el aumento en la permeabilidad del glomérulo, se debe a un daño en la MBG através de la activación del complemento independiente de los neutrófilos [C50,D37], esto se apoya en el hecho de que la proteinuria se inhibe por la descomplementación con un factor del veneno de la cobra [S63].

En base a los estudios referentes a la purificación y caracterización de los componentes involucrados en el SN causado por nefritis de Heymann, se han encontrado dos antígenos involucrados: el antígeno Fx1A que es una glicoproteína con un peso molecular de 330,000 daltones (gp-330) y la glicoproteína gp-90 de 90,000 Da, éstos antígenos se han encontrado en la superficie de las células epiteliales del glomérulo y del túbulo [K35,E1,B3].

El antígeno gp-330 se ha encontrado en ratas y perros pero no en conejos; sin embargo no se ha podido inducir la nefritis de Heymann en perros.

Es posible que el daño de la MBG através de la activación del complemento se relacione con un sistema de fagocitosis mediada por receptor, ya que en estudios in vitro se observó que la unión del anticuerpo al antígeno gp-330 provocaba la invaginación del complejo inmune [C7]. El daño glomerular inducido por reacciones inmunológicas no solo se debe a una respuesta fagocitaria mediada por receptor, ya que los componentes plasmáticos que se activan en presencia de complejos antígeno-anticuerpo, entre otras de las funciones de fagocitosis, presentan la de citólisis.

II) Modelos experimentales de tipo quimiotóxico.

1) Adriamicina (ADR).

El antibiótico adriamicina (ADR), llamado también doxorubicina, se aisló originalmente del hongo Streptomyces peucetius var. caesius [A19]. Es un derivado 14-hidroxil de la daunomicina que tiene propiedades antitumorales [D14]. Se ha utilizado en quimioterapia en el humano para el control de neoplasias malignas tales como leucemias, cáncer mamario, enfermedad de Hodgkin, sarcomas, linfomas y tumores sólidos, y se utiliza como quimioterapéutico debido a que inhibe la síntesis de DNA [B45,B46,Y9]. Los efectos secundarios que se presentan a la administración de ADR son la supresión hematopoyética, náusea, vómito, alopecia y, de acuerdo a la dosis y tiempo de administración, se ha observado efecto cardiotóxico [Y9].

La ADR se ha utilizado en modelos experimentales para provocar nefrotoxicidad. El daño glomerular inducido por ADR en ratas es muy semejante a la enfermedad de cambios mínimos que se presenta en el humano [G47]. Las características del SN inducido por ADR en modelos experimentales son proteinuria [B33,O1,R12,S44], hipoproteinemia [B33,G45], hypoalbuminemia [B33], hipercoagulabilidad [P24], hiperlipidemia [B33], hipercolesterolemia [B33,G45,H2], edema [P24], ascitis [P24], anasarca [B33] y aumento de triglicéridos [B33,G45]. La ADR induce SN en ratas y conejos [S35,B35,Y8,P19,F1,B33] y no se ha informado que sea nefrotóxico en el hombre. El efecto de la ADR depende de la dosis, que generalmente se inyecta por vía intravenosa y es un efecto

especie-específico. Se ha observado que las ratas Wistar con una dosis baja de ADR (3 mg/Kg de peso corporal) presentan un porcentaje bajo de glomerulosclerosis, severa proteinuria y una patología túbulo-intersticial mínima [G45] y estas mismas observaciones se han reportado en ratas Sprague-Dawley pero con una dosis alta de ADR (7.5 mg/Kg de peso corporal) [O1]. Las ratas Wistar con esta dosis alta de ADR presentan alteraciones túbulo-intersticiales muy marcadas como la formación de prolongaciones tubulares intraluminales, dilatación tubular con rompimiento de la membrana basal tubular e inflamación intersticial [B32].

Se ha informado que la cepa de ratas Munich Wistar Fromter presenta una excreción de proteínas normal diez veces mayor que cualquier otra cepa [S44]. Las nefronas de mamífero presentan heterogeneidad bioquímica, morfológica y funcional; las nefronas corticales son menos sensibles a ADR que las yuxtamedulares [S44], así, en especies como el conejo la ADR induce cambios casi exclusivamente en la corteza interna [F1,V10]. Tomando en cuenta ésta heterogeneidad, se ha propuesto que existen diferencias en la cantidad de oxígeno consumido en los diferentes tipos de nefronas [S44], las cuales, tanto a nivel intraespecie así como interespecie, podrían influir en la diferencia a la sensibilidad a ADR; aunque en realidad ésta posibilidad no sería de las mejores para explicar la diferente sensibilidad entre nefronas ya que una sola molécula de oxígeno puede desatar una gran cascada de procesos de peroxidación. Sin embargo, la cepa de rata Munich Wistar Fromter se utiliza en estudios debido a que tiene un buen número de glomerulos superficiales que favorecen el manejo de micropipetas. Esto significa que las discrepancias encontradas en modelos experimentales con ratas de diferente especie pueden deberse a diferencias genéticas de edad, sexo, peso y alimentación de los organismos, por estas diferencias se debe tener cuidado en la relación e interpretación de los resultados.

Dependiendo de la dosis de ADR se pueden tener modelos experimentales en los que una sola inyección i.v. causa SN, el cual remite espontáneamente, o bien produce SN que puede llegar a ser crónico y progresar hacia glomerulosclerosis (GE). La dosis que más se emplea en los modelos experimentales con ADR es la de 7.5 mg/Kg de peso corporal; las dosis de 10 mg/Kg de peso corporal provocan una alta tasa de mortalidad de los organismos. Las dosis de 3 y 5 mg/Kg de peso corporal producen proteinuria crónica (las alteraciones son menos severas a una dosis de 3.0 mg/Kg) que se mantiene en altos niveles por meses y después aparece la GE [B33,G45,O1,B32], aunque se ha informado que después de un largo periodo de proteinuria, la incidencia de GE es baja, por lo que la proteinuria crónica no necesariamente se acompaña del desarrollo de la GE, por lo que se podría decir que son fenómenos no relacionados [B32]. Esta diferencia podría deberse a los modelos utilizados ya que en el experimento en donde encuentran que no existe relación entre la GE y la proteinuria utilizan el modelo unilateral acelerado caracterizado por cambios morfológicos más severos que en el modelo clásico y que se presentan en un periodo de tiempo menor que en el modelo clásico.

El SN inducido en modelos experimentales por medio del tratamiento con ADR semeja el SN en el humano, sin embargo la nefrosis crónica por ADR que induce GEFS en modelos experimentales con ratas [H4] no se parece a la glomerulosclerosis en el humano [H2] ya que en estos modelos el transporte mesangial de macromoléculas no está alterado. El transporte mesangial normal y la presencia de proteinuria son fenómenos separados y no relacionados con el daño glomerular.

Las alteraciones morfológicas que llegan a apreciarse con microscopía de luz son mínimas, mientras que con microscopía electrónica se observa vacuolización de las células epiteliales

glomerulares [B33,M37,S44,W13], desprendimiento epitelial [B33,W13,W17], rupturas de vacuolas y agujeros sobre las células epiteliales [W17], fusión de procesos podocíticos a manera de banderas [B33,R11,R12,W13,W17], adelgazamiento de la membrana basal glomerular [S44], invaginación de la membrana plasmática epitelial [S44], dilatación focal de la cisterna del retículo endoplásmico [S44], células epiteliales con gotas de proteínas reabsorbidas, pérdida de los diafragmas de filtración [W17], poliuria y polidipsia [H4] y reducción en el marcador coloidal catiónico [B33,W13,W17].

Cuando la nefrosis es progresiva se suman las características de dilatación tubular con fibrosis intersticial [B33,B34,F1,H4,O1,V10,W13]. Estos cambios túbulo-intersticiales consisten en prolongaciones tubulares de proteínas acompañadas de infiltrados intersticiales, proliferación celular epitelial, atrofia [H4], infiltración linfocítica [H4], y colapso de capilares de la cápsula de Bowman [O1], resultando en glomeruloesclerosis.

Aunque se excluye un mecanismo inmunológico en esta glomerulopatía por la ausencia de depósitos de complementos e IgG [B34], se han informado inmunoagregados en la superficie de las células epiteliales dañadas por ADR [S39].

El efecto nefrotóxico directo de la ADR sobre el riñón [B33] se observa cuando se provoca nefrotoxicidad sobre un riñón perfundido con ADR por cinco minutos y al remover éste riñón perfundido desaparece la proteinuria [G45]. Se ha observado que cuando se bloquea la arteria renal e inmediatamente se administra una inyección i.v. de ADR, y ocho minutos después se quita la obstrucción de la arteria no se presenta alteración renal significativa en el riñón obstruido durante un período de sesenta días [B32]. Esto podría tomarse como una evidencia más del efecto directo de la ADR sobre el riñón, además de que se podría proponer que el daño provocado por la ADR debe llevarse a cabo durante los primeros minutos de su administración antes de su posible metabolismo y degradación.

En general, la hemodinámica glomerular se modifica en las dos primeras semanas después de la administración de ADR, y permanece constante hasta siete u ocho semanas después de la administración de ADR, lo que sugiere el mismo curso hemodinámico que en la nefrosis crónica [O1,S44,W13]. Los principales cambios observados son la disminución en la velocidad de filtración glomerular (VFG) en un 20-27% [O1,M37,W13], disminución en el flujo plasmático renal (FPR) del 15% [O1,W13]; disminución del coeficiente de ultrafiltración glomerular (Kf)_[O1] que es contrarrestado por el aumento en la presión capilar glomerular debido al aumento en la resistencia de la arteriola eferente glomerular en comparación con la aferente [O1,M37,W13]. Se ha observado en animales y en el humano que la dieta alta en proteínas aumenta la VFG y FPR per sé [P33,S23], cambios que pueden llevar a la esclerosis glomerular [B59].

La mayoría de los autores no reportan alteración de la función renal en el SN inducido por ADR, sin embargo en un estudio se observó un aumento en la concentración de urea y creatinina en plasma y una disminución en la depuración endógena de creatinina [H4]; esto puede deberse a diferencias en el tiempo de evolución del SN, ya que en este estudio las mediciones de creatinina y urea se realizaron varios meses después (trece semanas) de la administración de ADR, en los cuales ya se presentaba GE y sus alteraciones morfológicas típicas.

2) Aminonucleósido de puomicina (ANP).

El modelo de SN inducido con ANP presenta características muy similares al modelo por ADR. Al igual que en el modelo por ADR; el modelo con ANP es especie específico y su efecto depende de la dosis y vía de administración, que puede ser subcutánea (s.c.), intraperitoneal (i.p.)

e intravenosa (i.v.). Existen dos modelos de nefrosis por ANP: el modelo agudo y el modelo crónico. El modelo agudo se presenta al inyectar una sola dosis de ANP, que puede ir desde 50 hasta 150 mg/Kg de peso corporal de ANP [W17]. La administración de ANP presenta un período latente que va de 5 a 21 días dependiendo de la dosis y vía de administración [W20]. En este modelo las características del SN remiten después de un período de tiempo que depende de la dosis administrada. El modelo crónico es un modelo que puede producirse con inyecciones repetidas de ANP a menor dosis, las cuales mantienen el estado crónico de la proteinuria [G45, D16, C20, V9], o bien, se puede producir con una sola dosis mayor a la del modelo agudo. Estas ratas con proteinuria crónica desarrollan GEFS semanas después de la administración de ANP [L5, D16, D18]. Otros autores han aplicado combinaciones de inyecciones s.c. e i.v. para inducir nefrosis crónica con ANP y lesiones glomerulares en ratas [E9]. Las características del SN agudo inducido en ratas por ANP son muy semejantes a las características del SN que se presenta en el humano. El modelo de nefrosis crónica por ANP presenta lesiones glomerulares parecidas a la GEFS que se presenta en humanos.

Aún no se conoce el mecanismo por medio del cual se metaboliza el ANP, sin embargo, se han realizado muchos estudios acerca de las posibles vías que podrían intervenir en el metabolismo de este compuesto y de su relación con la nefrosis en los sistemas *in vivo* e *in vitro*, lo que ha permitido proponer posibles rutas metabólicas para el mecanismo de acción del ANP.

En el pasado se administró el ANP a los humanos con fines terapéuticos en el tratamiento del cáncer y de la tripanosomiasis en la enfermedad del Chagas. Las dosis empleadas en los estudios humanos variaron de 5.2 a 36.7 mg/Kg de peso corporal por día y en períodos de 10 a 30 días, presentándose nefrosis aguda [N12]. Se encontró que estos pacientes desarrollaban las características del SN consecuentes al uso de ANP [K15, N12]. Esto hizo que se descontinuara el uso del ANP en humanos.

El hecho de que un hombre que tiene SN y que después de un trasplante renal vuelva a recaer en el SN, indicaría que hay factores circulantes importantes en la patogenia de la enfermedad [H37]. Para dilucidar esto se estudió el modelo experimental con ratas, observándose que a diferencia del humano, un efecto directo del ANP es sobre el riñón de rata y que los factores circulantes no intervienen en la patogenia de la enfermedad. La perfusión arterial directa con ANP de un riñón aislado, seguida 3 minutos después de la perfusión con solución isotónica salina y el trasplante de éste riñón a un receptor normal produce proteinuria a este receptor animal después del período de inducción usual [H38]. En otro estudio se observa que, si a una rata normal le quitan sus dos riñones y le transplantan los riñones de una rata que ha sido inyectada i.v. con ANP 15 minutos antes de la remoción quirúrgica de ambos riñones para transplantarlos, esta rata normal receptora de los dos riñones de la rata inyectada con ANP, presenta proteinuria y desarrolla SN, después de un período de inducción (4-7 días) [H38]. Por el contrario, la exposición de un riñón normal a un ambiente nefrótico por trasplante no transfiere la enfermedad a éste riñón normal, ya que si a una rata inyectada con ANP, le quitan un riñón y le ponen el riñón de una rata normal (que no ha sido inyectada con ANP), no se transfiere la enfermedad a éste riñón normal [H38].

El efecto renal directo que produce la proteinuria masiva días después de la administración del ANP, ocurre en los primeros minutos después de la inyección de ANP [H38].

Los estudios anteriores indican que en la nefrosis por ANP, el riñón es programado días después, durante un período de inducción para desarrollar proteinuria. Aparentemente, el período

de inducción no se requiere para la conversión metabólica extrarrenal del ANP, pero sí para su conversión metabólica intrarrenal ya que inmediatamente después de la administración del ANP, el riñón es transplantado y una vez transplantado transcurre un cierto período de días para que aparezca la proteinuria.

La dosis y los posibles factores genéticos y ambientales, pueden determinar la diferente susceptibilidad del efecto nefrotóxico, en el desarrollo de la proteinuria y las lesiones renales después de la inyección de ANP [W12]. Hay una amplia variabilidad individual en la proteinuria secundaria a la administración del ANP. Por ejemplo, la administración intraperitoneal con ANP (13 mg/100 g de peso corporal) a ratas Sprague-Dawley tres veces durante un período de 77 días, produjo solo un 10% de los glomérulos afectados con enfermedad [O22]. Por el contrario el mismo esquema de inducción en ratas Wistar produjo enfermedad paralítica con distensión del intestino, peritonitis, y muerte de los animales. Otro esquema de inducción muestra que en las ratas Wistar, una serie de inyecciones subcutáneas semanales de 2 mg ANP/100 g de peso corporal durante 3 semanas y subsecuentemente en semanas alternas por 12-20 semanas, indujo GEFS en aproximadamente 8% de los glomérulos [O42,O45].

También se han hecho estudios en la cepa de ratas PVG/c que es una cepa resistente al desarrollo de proteinuria y a GEFS durante el envejecimiento o después de una uninefrectomía [O41]. Se ha encontrado que las ratas macho PVG/c son menos sensibles a los efectos del ANP que los machos Wistar. Se requieren altas dosis de ANP en ratas PVG/c para producir niveles de proteinuria equivalentes a aquellos de las ratas Wistar nefróticas durante un periodo de 5 meses, y la incidencia de GEFS es menor en ratas PVG/c nefróticas a comparación con las Wistar [O44].

Las ratas viejas de la cepa Sprague Dowley inyectadas i.v. una sola vez presentan SN de tipo crónico, en cambio en ratas jóvenes el SN de tipo crónico se induce por una segunda etapa de inyección de ANP, y la muerte por insuficiencia renal se presenta de 3 a 8 meses después de la readministración de ANP [W20].

Algunos autores han observado que no hay diferencias sexuales en la toxicidad de ANP (inyecciones subcutáneas (s.c), 15 mg/Kg de peso corporal por 12-14 días) en ratas albino adultas hembras y machos de la cepas Holtzman y Simonsen ya que son susceptibles de la misma manera [N1]. Otros han visto que en distintas cepas de ratas se presentan diferencias considerables en proteinuria [O44,O51,R38]. Las diferencias importantes interespecies en la susceptibilidad de las ratas a los efectos del agente nefrotóxico indican que la interpretación de los datos debe hacerse cuidadosamente.

Se ha encontrado que el ANP es especie específico ya que presenta alta nefrotoxicidad en la rata [N3,F27], en el hombre [N12], y en el mono en pequeñas dosis (dosis subletal) produce SN [M36] observándose que en estos la enfermedad es menos severa que en las ratas. En el perro se observa mediana nefrotoxicidad ya que se presentan lesiones renales microscópicas semejantes a las descritas en ratas, así como proteinuria e hipoalbuminemia, pero no presentan edema, ni hipercolesterolemia [Y3]. En el cobayo no se ha reportado nefrotoxicidad pero sí toxicidad [N2], mientras que en el conejo el ANP no es nefrotóxico pero sí produce hipercolesterolemia sin proteinuria [citado en M36].

Fisiopatología de la Proteinuria en el Síndrome Nefrótico

Se han hecho numerosos esfuerzos para encontrar los defectos de carga y tamaño de la pared capilar glomerular presentes durante la proteinuria. Sin embargo los estudios con diferentes pruebas catiónicas [N5,K19,A25,G40,R3,M3,W17,K52,K10,C17,C21,M31], marcadores inmunohistoquímicos [M50,R3,K19], y precursores radioactivos [K47,G40] han dado resultados variables.

A) Fisiopatología de la proteinuria en humanos con SN.

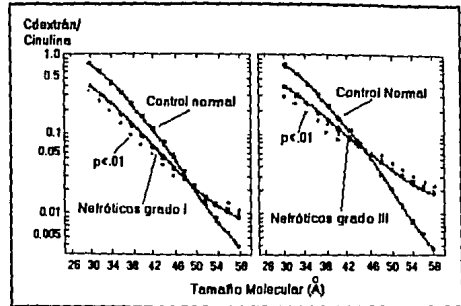
En pacientes con SN se han realizado estudios con moléculas de dextrán neutras de diferente tamaño para observar el paso de las moléculas a través de los poros alterados de la MBG y relacionar los cambios en el paso de macromoléculas con la proteinuria [D9,B57].

Se mencionó anteriormente, que en base a modelos teóricos y junto con datos experimentales acerca de la filtración glomerular de moléculas, se propone un modelo en el que existe un gran número de poros cilíndricos idénticos de la pared capilar glomerular (PCG) con un tamaño de aproximadamente 50-55 Å [B50], y que la albúmina (tamaño=36 Å) puede llegar a pasar al espacio urinario de personas nefróticas debido a la pérdida de la barrera electrostática de la PCG. En contraste, el paso de moléculas de gran tamaño como las IgG (tamaño=55 Å) que se filtran al espacio urinario se debería a que están alteradas las propiedades selectivas de tamaño de la PCG.

Se ha propuesto que hay tres grados de daño glomerular en pacientes con SN, ya que se ha observado la depuración de IgG o dextrans en tres órdenes de magnitud. En el grado I se observa que la PCG es altamente permeable a la albúmina y permanece relativamente impermeable a la IgG, y en el caso extremo o grado III las IgG son altamente permeables por lo que la PCG discrimina poco entre las moléculas "pequeñas" de albúmina y las grandes de IgG [K31] (Figura 12). Esto no es consistente si se propone que la PCG es un filtro de isoporos, ya que ninguna población de poros de idéntico tamaño puede restringir simultáneamente el paso de dextrans pequeños y aumentar el paso de dextrans grandes, por lo que fué necesario postular una membrana de heteroporos que contenía un grupo de poros suficientemente grandes para contar con el aumento de selección de moléculas de dextrán o IgG grandes.

Los datos obtenidos experimentalmente con los dextrans se aplican a un modelo de transporte de solutos a través de una membrana heteropórica y confirman que los hallazgos son consistentes con la presencia de una subpoblación de poros grandes y no discriminatorios [F29]. La fracción de área de la membrana ocupada por los poros grandes, al parecer pequeña, aumenta con cada uno de los grados de daño sucesivo de la barrera.

Figura 12.- Depuración fraccional de dextranes en función del tamaño molecular. Pacientes nefróticos grado I (izquierda) y grado III (derecha) comparados con los controles normales [K31].



La misma subpoblación de poros grandes presumiblemente provee la puerta de entrada para IgG y probablemente para la albúmina filtrada al espacio de Bowman. Entonces, la proteinuria no selectiva de proporciones nefróticas parece ser una consecuencia de la pérdida de la barrera de selectividad de tamaño que da a la membrana glomerular más poros para el paso de proteínas grandes del plasma sin considerar su carga.

Contrario a lo anterior, existen otros estudios que utilizan un análisis basado en la teoría hidrodinámica del transporte de solutos a través de una membrana isopórica [W22].

Se estima que, en relación al tamaño de poro de sujetos normales, el tamaño de poro en adultos con ECM se reduce de 59 Å a 55 Å, mientras que la densidad de poros (tamaño del área del poro \times longitud del poro) está reducido de 21.7 a 10.1 Å. Lo anterior se comprobó experimentalmente midiendo la depuración fraccional de dextranes en pacientes con ECM y una velocidad de filtración glomerular (VFG) normal, observándose que estaba abajo de la encontrada para sujetos normales en el rango de tamaño molecular de 20-44 Å. Esto sugiere que los factores hemodinámicos no explican la reducción en la depuración de dextranes, pero sugiere que existe una reducción glomerular en el tamaño del poro, o en la densidad de poros o en ambas (Figura 13). Resultados semejantes en niños utilizando depuración de PVP proponen el mismo tipo de alteración en adultos y niños [R24].

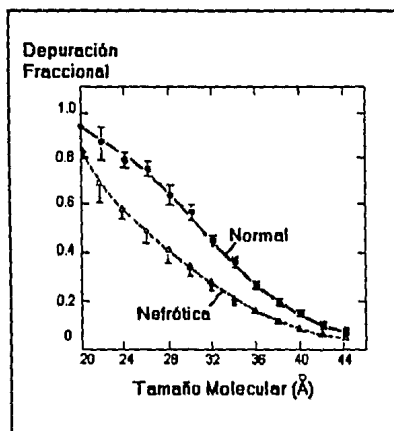


Figura 13.- Perfil de la depuración fraccional de dextranes en 50 pacientes nefróticos (Δ) y en 12 voluntarios sanos (\bullet) [D36].

La magnitud de la proteinuria predice poco su relación con la patología. Se han hecho intentos de relacionar la selectividad molecular de la proteinuria con la naturaleza y extensión de los cambios patológicos glomerulares responsables del SN.

La proteinuria altamente selectiva se define como la baja proporción de depuración de proteínas de alto peso molecular con respecto a la depuración de albúmina y proteínas pequeñas. En la proteinuria no selectiva, la depuración de proteínas plasmáticas muy grandes, por ejemplo, la de α_2 -macroglobulinas, está desproporcionalmente aumentada [G24].

Empíricamente, pacientes con cambios histopatológicos leves en el glomérulo pueden demostrar altos grados de selectividad, en cambio, la baja selectividad se asocia con daño glomerular más extenso, aunque existen excepciones; sin embargo, el uso de biopsias y de la clasificación morfológica da una aproximación real para la determinación del daño en lugar de solo tener la composición de proteínas urinarias.

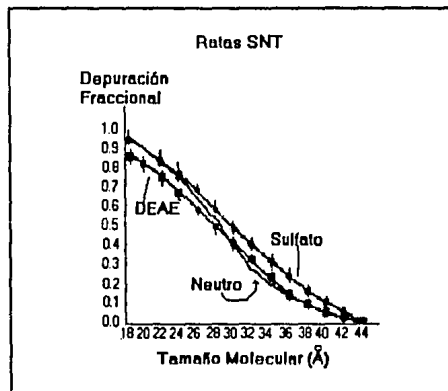
Mucha de la información que se tiene del SN se ha obtenido de los modelos experimentales de SN en animales de diferentes especies.

B) Fisiopatología de la proteinuria en los modelos experimentales de SNT y ADR.

B.1) Evidencias que apoyan que existe un defecto de tamaño y carga en la barrera de filtración glomerular:

El SN por SNT se caracteriza por la pérdida en la selectividad de tamaño y de carga la barrera de la MBG lo cual da como resultado el aumento en la permeabilidad glomerular al paso de moléculas grandes y pequeñas [H23] y el aumento significativo en la depuración fraccional de dextranes cargados negativamente (dextranes sulfato) (Figura 14) al compararse con ratas normales (Figura 8 del capítulo 1) [B50].

Figura 14- Depuración fraccional de diferentes tipos de dextranes en ratas con SN inducido con SNT. (línea) dextranes neutros, • dextranes sulfato, ■ dextranes catiónicos [K14].



Se ha propuesto que la arquitectura de los procesos podocíticos está determinada por las cargas polianiónicas de HS junto con la cubierta de ácido siálico de sialoproteínas [M31]. En el SN por ADR la reducción en el marcador coloidal catiónico puede interpretarse como una evidencia de la pérdida de la barrera selectiva de carga de la pared capilar glomerular y de su correlación con la proteinuria y las alteraciones morfológicas [B33].

Otros autores han propuesto que la reducción de la barrera selectiva de carga, formada por los azúcares heparán sulfato de la MBG y el ácido siálico (AS) de las células epiteliales, no correlaciona con la alteración de la permeabilidad glomerular, ya que se ha observado en el modelo con ADR, que simultáneamente al inicio de la proteinuria se presenta una disminución de heparán sulfatos, después se obtiene el máximo de proteinuria y posteriormente una disminución de ácido siálico. El máximo de proteinuria coincide con el desprendimiento epitelial [G47,W17]. Esto sugiere que los papeles exactos de la disminución de HS, AS y la ultraestructura glomerular y sus propiedades de permeabilidad selectiva aún no se determinan.

Las diferencias en estos hallazgos pueden deberse a las diferencias en las técnicas aplicadas, ya que algunos autores han observado una disminución de la barrera de carga con el uso de los marcadores coloidales catiónicos a lo largo de las células epiteliales de la MBG con microscopía de luz [B33,W13], sin embargo, mediante microscopía electrónica [W13] no se observan cambios en cuanto a la barrera selectiva de carga en la lámina rara interna y en la lámina rara externa, lo cual refleja que no hay cambios funcionales de ésta barrera. Estas diferencias entre la microscopía de luz y electrónica se han explicado como posibles enmascaramientos de estos sitios aniónicos debido a la nueva morfología provocada por la fusión de los procesos podocíticos [W13]. Aún más, los autores que han observado las diferencias en el número de sitios de marcadores catiónicos han utilizado diferentes marcadores catiónicos con microscopía de luz (tinción de hierro coloidal) [B33,W13] y electrónica (tinción con polietilenimina, PEI) [W13], y se ha reportado una leve alteración de la arquitectura glomerular con la tinción de PEI en células normales [W17]. Es posible que éstas diferencias entre una técnica y otra influyan en la interpretación de los resultados.

Estudiando la albuminuria con técnicas radiactivas, se observó que en ratas tratadas con ADR la excreción de albúmina (ASB) marcada con yodo (I^{131}) y la excreción de albúmina sin carga (neutra, ASBn) marcada también con I^{131} fué muy semejante, dando evidencia de la modificación de la barrera selectiva de carga [B37].

Por otra parte, y contrario a lo anterior, se tienen estudios que proponen un defecto en la barrera selectiva de tamaño sin alteraciones en la barrera de carga [M37,W13]. Estos estudios se basan en la depuración de dextranes neutros de diferente tamaño molecular y en la depuración de peroxidasas de rábano catiónicas (PRc), aniónicas (PRa) y neutras (PRn) [W13]. Se observó que hay un aumento en la depuración de dextranes neutros con tamaño molecular mayor de 50 Å y un aumento del 33% en la depuración de PRa. El aumento en la filtración de PRa no es el resultado de un defecto en la selectividad de carga ya que no hay una disminución simultánea en la depuración de PRc. Se ha observado que el rango de depuración de PRc y PRn corresponden a la depuración de moléculas pequeñas. En ratas Wistar tratadas con ADR y controles, las moléculas pequeñas catiónicas y neutras se filtran de la misma manera, y las moléculas aniónicas de mayor tamaño que en condiciones normales tienen restringido el paso a través de la barrera de filtración, llegan a filtrarse en las ratas tratadas con ADR, por lo que se afirma que la alteración de la barrera es a nivel del tamaño de los poros, manteniéndose inalterada la carga de esta barrera [W13].

Es posible que las células epiteliales de la barrera glomerular sufran el efecto directo de la ADR, ya que las alteraciones morfológicas que presentan son muy evidentes mientras que los componentes aniónicos que constituyen la lámina rara interna y la lámina rara externa de la MBG

permanecen aparentemente sin alteración [W13].

C) Fisiopatología de la proteinuria en el modelo experimental con ANP.

Los estudios originales de marcaje utilizando ferritina se llevaron a cabo en ratas con proteinuria secundaria a la inyección del ANP [F7]. La ferritina inyectada i.v. se encontró en el espacio urinario. Esta pérdida anormal de la ferritina sugirió la posibilidad de un defecto bioquímico en la MBG. Experimentos adicionales con dextranes neutros graduados en ratas nefróticas por ANP revelaron que fracciones que normalmente están restringidas al nivel del endotelio pasaban al espacio urinario [C18], sin embargo, la ruta exacta por la cual se escapaban los dextranes no se confirmó, por lo que se mantuvo la hipótesis de que era un defecto a nivel de la MBG. Esta hipótesis se mantuvo por varios años hasta que otros investigadores [V5] sugirieron que la ruta de transferencia de proteínas al espacio urinario ocurría vía defectos focales en la pared capilar glomerular causados por el desprendimiento del epitelio visceral de la MBG.

Varios investigadores han observado el escape de marcadores a través de estos defectos al espacio urinario en la nefrosis por ANP [O10,R37,R38] en donde se han descrito fusión de los procesos podocíticos de las células epiteliales, desprendimiento celular y reducción del marcado con oro coloidal en la superficie celular [M31]. Estos autores proponen que el defecto se localiza exclusivamente en las capas externas de la pared capilar glomerular, mientras que las capas internas, a través de las cuales pasan las macromoléculas inicialmente, están intactas. La pérdida de polianiones de superficie celular explica los defectos relacionados con la carga en estas condiciones experimentales, ya que parece ser que las sialoglicoproteínas de las superficies celulares juegan un papel importante en el proceso de anclaje ya que el tratamiento de los riñones con la proteasa neuraminidasa resulta en el desprendimiento epitelial de los procesos podocíticos de la MBG [K4,K11]. Así, la perfusión de ferritina nativa en estos riñones tratados resulta en la pérdida del marcador en el espacio urinario que se limita a las regiones de la MBG sin células epiteliales [K11]. A pesar del desprendimiento epitelial, las regiones desnudas de la MBG tienen intactos los sitios aniónicos de HSPG que bajo esta condición no ofrecen restricción al paso de proteínas aniónicas, incluyendo la ferritina nativa o la albúmina. Sin embargo, esta teoría está en debate ya que existen datos contradictorios acerca del contenido de HSPG en la barrera de filtración glomerular en la nefrosis por ANP [C17,C21,R3,K8,G40].

C.1) Evidencias a favor de la alteración en el tamaño:

Las evidencias que apoyan que existe un defecto de tamaño en la barrera de filtración glomerular de ratas con SN por ANP se mencionan a continuación: la depuración fraccional de dextranes neutros en la nefrosis inducida por ANP disminuye uniformemente para moléculas con un tamaño molecular menor a 40 Å [B49,O10]. Estudios con dextranes grandes de hasta 58 Å, han mostrado aumento en la depuración fraccional de estas moléculas grandes en ratas nefróticas comparadas con ratas normales [O10]. Las bases morfológicas para esta alteración en la discriminación de tamaño del filtro capilar parece ser el desprendimiento focal de las células epiteliales de la MBG.

C.2) Evidencias a favor de la alteración en la carga:

Las evidencias que apoyan que existe un defecto de carga en la barrera de filtración glomerular de ratas con SN inducido con ANP son las siguientes: a) el aumento de la depuración

fraccional de dextranas sulfato cargados negativamente en ratas tratadas con ANP en comparación con ratas normales [B49], y b) la depuración fraccional de moléculas de peroxidasa de rábano cargadas negativa y positivamente en ratas nefróticas aumenta y disminuye respectivamente en relación con los controles [C10].

Para estudiar las alteraciones de carga en la barrera de filtración glomerular fué necesario utilizar pruebas de marcaje para los diferentes polianiones constituyentes de la barrera de filtración glomerular. y a continuación se describen estos hallazgos:

Algunos autores han encontrado una disminución en el contenido de PGHS en la MBG [C17,C21,K52,M50,N5,W17] y en las células epiteliales glomerulares [C17,M31] durante la nefrosis por ANP; otros autores observaron disminución en un estado temprano de la nefrosis por ANP en la MBG [R3,M3], y en las células epiteliales glomerulares [G40], y otros no observaron cambios en la MBG [K8,K10,R3] ni en el glomérulo en la nefrosis por ANP [G40]. Con los marcadores catiónicos como lisozima [C17], azul de Alciano [C21], azul cuprolínico [K52] y PEI [N5,W17] se observó una disminución en el contenido de PGHS de MBG durante la nefrosis en ratas tratadas con ANP. Contrario a estos hallazgos, no se observó cambio en el contenido de PGHS en MBG con los marcadores catiónicos: ferritina catiónica marcada con ¹²⁵I (FCI) [K8], ferritina catiónica (FC), citocromo-c, rojo de rutenio [K10] y PEI [R3]. En las células epiteliales glomerulares existen resultados similares con los estudios realizados con marcadores catiónicos, ya que se ha encontrado una disminución de PGHS en CEG durante la nefrosis por ANP utilizando lisozima [C17], azul de Alciano [M31] y oro coloidal [M31]. Estas discrepancias se deben a la heterogeneidad de las pruebas y condiciones experimentales, la explicación puede ser las diferentes afinidades de las pruebas para los diferentes grupos polianiónicos de la pared capilar glomerular. La lisozima y el azul de Alciano interaccionan con los grupos sulfato de los sitios aniónicos de la MBG así como con los grupos sulfato y policarboxilato asociados a sialoglicoproteínas de las superficies celulares de células endoteliales y epiteliales. La disminución de la unión de lisozima y azul de Alciano en la nefrosis por ANP puede deberse a la pérdida de grupos polianiónicos de la pared capilar glomerular y no únicamente a la pérdida de los sitios aniónicos de la MBG, ya que estas pruebas no son específicas para estos sitios. Se ha observado una disminución progresiva de la unión de lisozima en la MBG y en la superficie celular de las CEG [C17]. Cuando la lisozima pierde su unión, el epitelio comienza a desprenderse, y en este estado tardío de la nefrosis la proteinuria es máxima, por lo que podría pensarse que hay una relación entre la proteinuria y el desprendimiento epitelial, sugiriendo que los sitios aniónicos pueden representar sitios de unión entre las CEG y la MBG [C16], sin embargo la asociación anterior no es absoluta, ya que se ha observado unión de lisozima en la MBG y en CEG, y como resultado el epitelio se desprende o por el contrario no se ha observado unión de lisozima en la MBG y en las CEG, las cuales permanecen unidas a la MBG. Por el contrario, los marcadores FC, FCI y citocromo c, son específicos para los grupos sulfato de los sitios aniónicos en la MBG y se utilizan para ver cambios en la densidad numérica de estos sitios, lo cual también se ha observado para el marcador rojo de rutenio [citado en K10].

La lisozima tiene una densidad de carga baja, por lo que podría esperarse que sufriera una mayor pérdida de unión en comparación con FC, FCI, citocromo c y rojo de rutenio, que tienen densidades de carga mayores. La lisozima es mucho más sensible y refleja fielmente las alteraciones en la densidad de carga y distribución de los sitios aniónicos, por lo que es posible

que la pérdida de la unión de lisozima no se deba a una reducción en el número de sitios aniónicos, sino tal vez a una disminución en la densidad de carga de estos sitios [K10].

El azul cuprolínico es un reactivo catiónico que se une a grupos sulfato y carboxilo de la MBG; cuando se combina con amortiguadores de cloruro de magnesio se une preferentemente a grupos sulfato; su unión disminuye a pH menores de 2 (el pK de los grupos sulfato es 2.0 y de los grupos carboxilo es 5.0) lo que sugiere que reacciona con grupos sulfato de la MBG. Por lo tanto, existe la posibilidad de que los grupos carboxilo en la MBG puedan ser también reducidos por ANP, contribuyendo por una parte a los defectos de carga y tamaño de la permeabilidad [K52]. La FCI es un reactivo que presenta un pI cercano al pH del plasma, lo que permite pensar que esta FCI por sí misma no causa alteración significativa en la hemodinámica del glomérulo y revela que la proteinuria en la nefrosis por ANP no se relaciona con una alteración en los sitios aniónicos en la MBG.

Se ha observado con el marcador catiónico FC y mediante digestión enzimática, que en la superficie de la membrana celular endotelial predomina el ácido siálico y que los PGHS están en menor cantidad, mientras que en las fenestras endoteliales hay una mayor cantidad de PGHS y menos ácido siálico [A25]. La infusión del polication hexadimetrina [H44] es una evidencia de la inducción de los defectos selectivos de carga y tamaño provocados por la unión de este marcador a los grupos carboxilo de proteínas en la MBG, más que a los grupos sulfato de PGHS en la MBG [B36].

El marcador PEI es específico para PGHS de la MBG y no marca grupos carboxilo de proteínas [W17,R3]. Algunos de los autores que proponen que no existe un cambio en este marcador en la MBG se han enfocado básicamente a la LRE, ya que en la LRI y en la LD los sitios de PEI están distribuidos irregularmente y no pueden considerarse para el estudio comparativo entre ratas controles y nefróticas; además han observado ocasionalmente en la superficie de los bloques de corteza renal, el PEI que no está unido fuertemente y que se puede lavar fácilmente [R3]. En otro estudio [M3], se propuso una disminución de PGHS en la MBG en el estado temprano de la nefrosis por ANP. En este estudio se encontró que había una pequeña disminución de PEI, 4 horas después de la administración de ANP y que persistía por 7 días, sin embargo, había poca diferencia entre estos sitios y los que se presentaban más tarde en la nefrosis. Los datos encontrados en estos dos últimos trabajos reflejarían una disminución en la densidad de carga, sin embargo, esta disminución en la densidad de carga no correlaciona con el inicio de la proteinuria.

Hay otros estudios en los que también se ha propuesto que existe una disminución de sitios que unen PEI en la MBG [W17,M5]. En esos estudios, a diferencia de los mencionados anteriormente, el marcador se observó en toda la MBG, sin embargo, la disminución de los PGHS con el marcador PEI no coincidió con la proteinuria, y se propuso que el marcador causaba alteración en la arquitectura glomerular. En este caso la proteinuria coincidió con el desprendimiento epitelial y la ruptura de vacuolas sobre las CEG, formándose agujeros por los cuales escapan proteínas [W17].

Los datos anteriores sugieren que el glomérulo tratado con ANP presenta aberraciones en la capacidad para discriminar entre macromoléculas en base a su tamaño y carga eléctrica neta [R16]. Esta conclusión está de acuerdo con los estudios bioquímicos e histoquímicos que muestran disminución en los polianiones glomerulares [C17,M31], así como con estudios de marcaje morfológicos y ultraestructurales que demuestran defectos estructurales focales en la pared del

filtro [V5,O10,R37,R38].

C.3) Alteraciones metabólicas de los PGHS en el SN:

Estudios con técnicas inmunohistoquímicas y radioisotópicas han permitido obtener información sobre el metabolismo de los PGHS del glomérulo. Se ha demostrado en el humano y en ratas que las células endoteliales y epiteliales son fuente de PGHS de MBG [S61,S59].

Se han detectado glicosaminoglicanos heparán sulfato (GAG'HS) en la superficie celular y en el medio de cultivo de CEG humanas in vitro mediante la incorporación de (S^{35})SO₄ [S61]. En un estudio in vitro se informó de la incorporación de (14 C)-glucosamina y (35 S)-Sulfato por las CEG de rata en el medio de cultivo [F20], lo que indica que las células utilizan activamente estos sustratos, sin embargo no se identificaron los glicopéptidos específicos en los cuales se incorporaron. Se ha observado que el ANP reduce el contenido de macromoléculas sulfatadas en el medio de cultivo de CEG, y podrían ser del tipo de los heparán sulfato [F20]. Otros [K38] han encontrado que el contenido de ácido siálico de la sialoglicoproteína podocalixina disminuye en la nefrosis por ANP. Por otro lado, se ha reportado síntesis anormal de glicosaminoglicanos (GAG) en el glomérulo de ratas tratadas con ANP [D10,G33,K47,F4,G40].

Se ha encontrado una reducción general en la síntesis de glicopéptidos sulfatados y una disminución del 33% en la síntesis de HS en glomérulos aislados de ratas en el estado temprano de la nefrosis por ANP [G40], la cual se recupera en el estado tardío de la nefrosis [G40,K47]. No se han encontrado cambios en el contenido de los PGHS en la MBG aún con el aumento en la velocidad de incorporación de 35 SO₄ en los PGHS, lo que implica un aumento en la velocidad de rompimiento (catabolismo) [K47]. Este aumento en la síntesis de los PGHS glomerular origina los PGHS de bajo peso molecular. Las cadenas laterales de glicosaminoglicanos (35,-GAG) presentan el mismo peso molecular (PM=14,000) en ratas normales y nefróticas, es decir, las cadenas son de la misma longitud, por lo que la alteración se encuentra en la parte proteica del PGHS (35,-PG), que es más pequeña en el estado nefrótico, por lo que se concluye que el ANP estimula la síntesis de los PGHS de bajo peso molecular con cadenas laterales normales de HS, y, aunque la velocidad de síntesis de estos PGHS está aumentada, no se observa un cambio en el contenido de los PGHS de MBG [K47]. Por otra parte se ha propuesto un aumento en la síntesis de los PGHS de bajo peso molecular en los glomérulos de rata con SN (in vitro) y una degradación parcial de la estructura proteica de estos PGHS, por lo tanto, el aumento en la velocidad de síntesis total de los proteoglicanos (PG) puede ser compensatoria al aumento en su degradación, o a un desorden en la organización de la matriz, resultado de una perturbación de otro componente de la matriz asociada a los PG.

En un estudio en ratas normales con la técnica de inmunoperoxidasa, y con el anticuerpo en contra de la estructura proteica de los PGHS de la MBG (anti-MBG-PGHS) se han detectado PGHS en las CEG y MBG [S59]. El producto de reacción "decora" los organitos intracelulares de las CEG, lo que indica que las CEG sintetizan la estructura de proteína de los PGHS. Además, por este mismo método en otro estudio en ratas nefróticas por ANP, se observó que el ANP causa un 28% en la disminución de la estructura proteica de los PGHS en las CEG en cultivo 3 días después de su administración sin alterar el contenido de otra proteína celular, por lo que el efecto del ANP tiene selectividad [K19]. El hecho de que se haya encontrado que el ANP provoca una disminución del 28% en el contenido de la estructura proteica de los PGHS en las CEG, apoya la interpretación de que in vivo las CEG son fuente de PGHS en la MBG, por lo que se espera

que el contenido de los PGHS en la MBG se reduzca en la nefrosis por ANP.

En ratas con SN inducido con múltiples inyecciones de ANP, mediante la administración intravenosa de anticuerpos anti-PGHS de la matriz tumoral de EHS (anti-EHS-PGHS) al glomérulo con la técnica de inmunoperoxidasa (en el día 17 de la nefrosis por ANP), se ha encontrado reducción en la unión del anticuerpo a la estructura proteica de los PGHS de MBG [M50]; es decir, se reporta pérdida de antígenos de los PGHS en la MBG, lo que puede deberse a la pérdida de sitios antigénicos de la estructura proteica debido a una degradación parcial de la estructura de proteína del proteoglicano, o bien a la posibilidad de que el ANP induzca una reducción en la síntesis de los PGHS de la MBG por las CEG.

Contrario a lo anterior, en ratas nefróticas con ANP, usando un sistema de perfusión in vivo de anticuerpos anti-MBG-PGHS en el riñón durante el estado tardío de la nefrosis (días 7,10,14,21) no muestra cambios en la cantidad y distribución de los PGHS en MBG de ratas tratadas con ANP y normales [L14], pero sí una recuperación de la síntesis de glicosaminoglicanos [G40,K47,L14], lo que sugiere la recuperación de la síntesis de PGHS por CEG en el estado tardío de la nefrosis o un aumento compensatorio en la síntesis de PGHS por otras células glomerulares, ya que se ha visto que las células endoteliales y mesangiales sintetizan PG [B70,S61].

Los datos obtenidos con técnicas de inmunoperoxidación varían debido a que se aplican intravenosamente los anticuerpos al glomérulo, por lo tanto, los anticuerpos se utilizan más o menos como marcadores, y para el uso i.v. de marcadores se necesita saber el pI, ya que el pI puede influir en la hemodinámica glomerular (VFG) [B49].

Debido a las discrepancias encontradas con los estudios inmunohistoquímicos, para evitar los problemas que se presentan con la administración i.v. de estos anticuerpos (anti-MBG-PGHS y anti-EHS-PGHS), se realizó un estudio con un método inmunohistoquímico que ocupa ambos tipos de anticuerpos y un método de marcaje en el cual se incorporan partículas de oro sobre las muestras para el análisis inmunohistoquímico evitando dificultades de la administración i.v. de los anticuerpos [R3], ya que se sabe que el ANP disminuye la VFG [B49], lo que podría afectar la llegada del anticuerpo a la MBG [K8]. La característica de los anticuerpos son: los anticuerpos contra los PGHS de la matriz de EHS, son específicos para la estructura de proteína de los PGHS largos (400,000 Da) y de baja densidad [H10,K7,L13]. Los anticuerpos en contra de los PGHS de MBG (130,000 Da) son específicos para la estructura de la proteína de 18,000 Da de PGHS pequeños [M5]. En base a diferentes métodos de aislamiento de PGHS del glomérulo y de MBG, se observa [K46] que el tamaño de la estructura de proteína varía, y la estructura de proteína más larga pertenece a proteoglicanos aislados directamente del glomérulo.

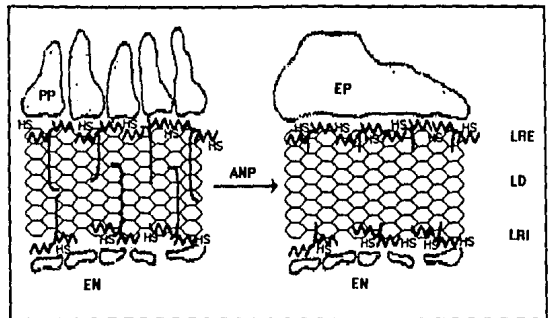
Se ha demostrado que los proteoglicanos de MBG y de células EHS se relacionan antigénicamente [K46]. El anti-MBG-PGHS es específico para lámina rara y el anti-EHS-PGHS está en las 3 capas de la MBG.

Relacionando lo encontrado con los anticuerpos anti-MBG-PGHS que disminuyen en el estado temprano de la nefrosis [R3], con los resultados de otros trabajos [L14,K19], se encuentra que dentro de los primeros días después de la administración del ANP hay una disminución glomerular de PGHS por la producción de las CEG que se refleja en la disminución de inmunomarcaje para PGHS de MBG y posteriormente se recupera. Mientras que el uso de anticuerpos anti-EHS-PGHS presenta una disminución de éstos durante de la nefrosis con ANP [R3,M50].

Es posible que debido a los diferentes métodos de preparación de los anticuerpos anti-

MBG-PGHS y anti-EHS-PGHS se reconozcan diferentes epítomos en regiones de la misma estructura de proteína de PGHS, los cuales se localizan en diferentes regiones en la MBG, o bien, que estos anticuerpos puedan reconocer dos PGHS genéticamente diferentes en la MBG. En cualquiera de los dos casos, los dos anticuerpos policlonales marcan diferentes poblaciones de epítomos de PGHS de MBG y esto se puede usar para comparar cambios en éstas poblaciones durante la nefrosis por ANP. Se espera que una porción de la estructura de proteína del PGHS que penetra la lámina densa en la MBG esté alterada en la nefrosis por ANP, lo que resultaría en la disminución del marcaje con anti-EHS-PGHS, y que la porción de la estructura de proteína en la lámina rara (marcaje con anti-MBG-PGHS) también se reduciría en la nefrosis temprana por ANP [R3] (Figura 15).

Figura 15.- Representación esquemática de las alteraciones propuestas de los PGHS después de la administración del ANP en base a estudios inmunoquímicos e histoquímicos. Bajo condiciones normales la estructura de proteína se extiende hasta la lámina densa de la MBG. Sin embargo, después de la inyección de la droga, la estructura proteica larga no está disponible para la unión del anticuerpo. Solo la porción periférica de la estructura de proteína, que apoya a las cadenas laterales de heparán sulfato (HS), permanece asociada con la lámina rara de la MBG. Procesos podocíticos (PP), epitelio (EP), endotelio (EN), [R3].



Se han propuesto varios mecanismos para explicar la disminución de la estructura de proteína de PGHS:

- 1) Disminución o alteración en la síntesis de la proteína por CEG.
- 2) Aumento parcial de la degradación de la proteína.
- 3) Alteraciones en las características de organización en la matriz, las cuales pueden interferir con el marcaje de la proteína.

Por el momento no se conoce si las alteraciones observadas en la estructura de proteína de los PGHS causan la proteinuria.

Estos probables mecanismos se han estudiado y de esta manera se ha encontrado que la expresión de los genes de colágena alfa 1 (IV), laminina y PGHS de la MBG están regulados anormalmente en la nefrosis por ANP y esta regulación génica anormal puede contribuir al desarrollo de la proteinuria [N5]. Los niveles de ARNm de los componentes de la MBG: colágena alfa 1(IV), y lamininas A, B1, y B2, aumentan en la nefrosis por ANP [N4,N5], mientras que los niveles de ARNm de PGHS del glomérulo disminuyen [N4,N5]. Los bajos niveles de ARNm de PGHS en el glomérulo tratado con ANP podrían estar asociados con una disminución de su síntesis [N4]. La alteración de los genes de las proteínas de la MBG en la nefrosis por ANP no se debe a la proteinuria, sino a un efecto directo y específico del ANP. Se ha observado que la alteración en la expresión de éstos genes del glomérulo no es parte de un fenómeno general en el que se encuentre alterada la expresión de todo el ARNm, ya que el nivel del ARNm de los PGHS de médula renal [N4] y el de una proteína control como lo es la beta actina [N5], no se

encuentran afectados en la nefrosis por ANP, por lo tanto, es probable que el efecto del ANP en el ARNm de los PGHS sea específico del glomérulo, sugiriéndose que el ANP afecta a las células glomerulares, y subsecuentemente altera la expresión de los ARNm de MBG en la nefrosis [NS]. El efecto del ANP en la expresión del ARNm de los componentes de MBG es reversible.

Mediante una prueba inmunofluorescente se ha observado que los anticuerpos anti-PGHS, antilaminina, y anticolágena IV, no presentan diferencias significativas en el patrón, distribución, e intensidad en ratas controles y nefróticas por ANP [NS]. Al parecer el método inmunofluorescente no puede detectar cambios de la colágena IV y laminina en glomérulos tratados con ANP, o bien puede deberse a su rápida degradación. No se ha podido encontrar compatibilidad con los datos de inmunofluorescencia y los niveles del ARNm de los PGHS en el glomérulo tratado con ANP. Esto podría ser el resultado del aumento en la eficiencia de traducción en el estado nefrótico, o baja sensibilidad del método inmunofluorescente. Esta expresión génica anormal puede resultar en la alteración del ensamblaje de la MBG y contribuir a la proteinuria. En ausencia de mediciones directas de velocidad de la síntesis y degradación de proteínas, y estabilidad del mensajero, las conclusiones solo son tentativas. La caracterización de los mecanismos que regulan la expresión de los componentes de la MBG en los niveles transcripcional y traduccional, son necesarios para entender las vías que permiten el ensamblaje de cadenas funcionales de colágena alfa 1 (IV), laminina y PGHS para la formación de la MBG y sus alteraciones por el tratamiento con ANP.

Los hallazgos mencionados para explicar la proteinuria en la nefrosis por ANP se pueden resumir de la siguiente manera:

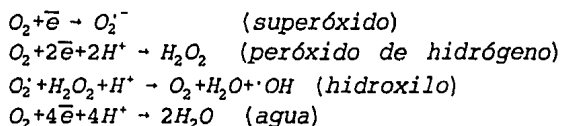
- 1) Disminución en el número, distribución y densidad de grupos aniónicos de PGHS, grupos carboxilo de proteínas, constituyentes de la barrera de filtración, así como la disminución del ácido siálico asociado a sialoproteínas de la superficie celular de las células endoteliales y CEG.
- 2) Alteraciones metabólicas de los PGHS del glomérulo.
- 3) Regulación anormal de la expresión de los genes de las proteínas constituyentes de la MBG.
- 4) Desprendimiento epitelial de CEG de la MBG, formando agujeros por los cuales se pierden las proteínas. Se propone que los sitios aniónicos son sitios de anclaje de CEG en la MBG pero no se puede afirmar.

Metabolismo y Mecanismo de Daño en el Síndrome Nefrótico Experimental

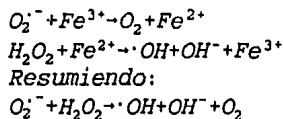
A) Modelo experimental de SN por adriamicina (ADR).

Se ha propuesto que el mecanismo por medio del cual la ADR (Figura 16) produce daño mediante la formación de radicales libres del oxígeno, los cuales producen lipoperoxidación de los ácidos grasos insaturados presentes en los lípidos de membrana y alteran su estructura.

Es importante para la célula normal que la molécula de oxígeno se reduzca para formar dos moléculas de agua aceptando 4 electrones. El 98% del oxígeno consumido va a mitocondria y es reducido por la citocromo oxidasa. Cuando el oxígeno acepta menos de 4 electrones en una célula normal, forma metabolitos tóxicos como el radical superóxido ($O_2^{\cdot-}$), peróxido de hidrógeno (H_2O_2) y el radical hidroxilo (OH^{\cdot})^[L17, G39], como se ilustra en el siguiente cuadro:

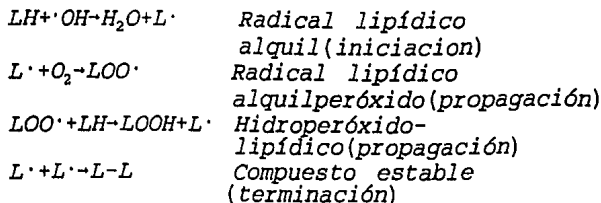


El $O_2^{\cdot-}$ y el H_2O_2 pueden actuar en presencia de metales y quelantes para dar el radical hidroxilo (OH^{\cdot}), mediante la reacción de Haber-Weiss (o reacción de Fenton mediada por $O_2^{\cdot-}$) [15] ilustrada en el siguiente cuadro:



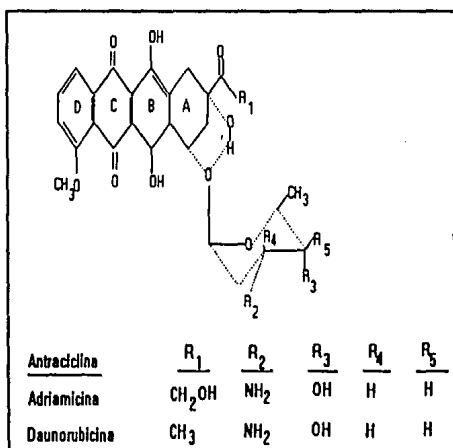
El OH^{\cdot} es el radical libre más activo en los sistemas biológicos, y es el único capaz de abstraer hidrógenos de los carbonos insaturados con facilidad, en cambio, el oxígeno no inicia estos procesos ya que no es buen reactivo abstractor de hidrógeno [G39, P20]. La reacción se inicia cuando el radical hidroxilo (OH^{\cdot}) atrae el hidrógeno de la cadena insaturada de los fosfolípidos de membrana (LH), y forma agua y un radical lipídico alquilo (L) el cual, en presencia de oxígeno, se oxida y forma un radical lipídico alquilperóxido (LOO). La reacción se propaga

cuando este radical $\text{LOO}\cdot$ reacciona con otro LH , abstrae su hidrógeno y forma un hidroperóxido lipídico (LOOH) y un radical libre $\text{L}\cdot$. La reacción termina cuando los radicales libres $\text{L}\cdot$ se unen y forman un compuesto estable L-L [639]. Las reacciones descritas se ilustran a continuación:



Existen algunos mecanismos para la producción de radicales libres del oxígeno, algunos de los cuales están directamente relacionados con la estructura de la ADR (Figura 16); por ejemplo: a) el mecanismo de formación de semiquinonas durante el ciclo redox mediado por flavoproteínas que en condiciones aeróbicas da lugar al radical superóxido, b) el mecanismo dependiente del complejo doxorubicina- Fe^{2+} , y c) el mecanismo de la vía del metabolismo de las purinas-pirimidinas por medio del sistema xantina oxidasa, aunque este último mecanismo no se relaciona con la estructura de la toxina.

Figura 16.- Estructura química de la adriamicina (ADR) [K64].



La ADR es un compuesto formado por 4 anillos insolubles en agua denominados tetraciclina aglicona (estructuras ABCD) (Figura 16) y un azúcar soluble llamado daunosamina. De uno de los anillos parte una cadena lateral, y la diferencia entre la doxorubicina (ADR) y la daunorubicina, compuesto del cual deriva, se encuentra en los grupos sustituidos en esta cadena lateral. Los anillos de mayor importancia son el B y C.

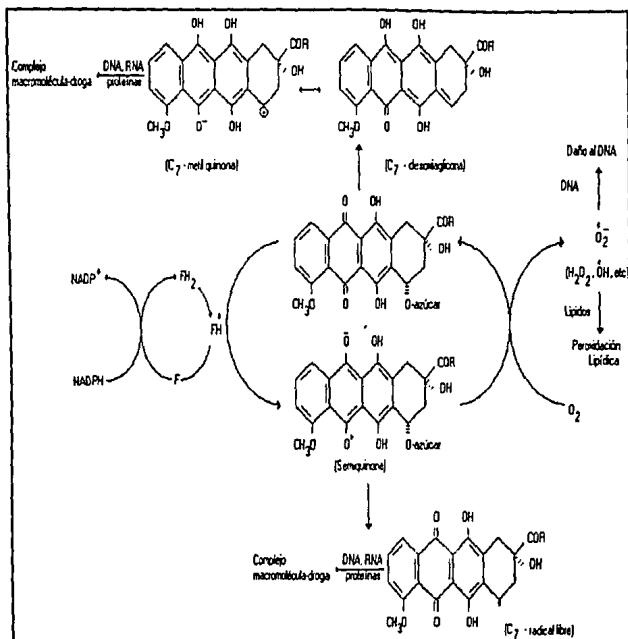


Figura 17.- Mecanismo de formación de semiquinonas durante el ciclo redox mediado por flavoproteínas para la formación de radicales libres [K64].

El anillo C es un grupo quinona que, al reducirse por un electrón, origina la formación de un radical libre semiquinona (Figura 17). El anillo B es una hidroquinona que, por oxidación de un electrón, puede dar origen a la semiquinona, la cual es relativamente estable en condiciones anaeróbicas, pero en condiciones aeróbicas la semiquinona, que está reducida, cede su electrón al oxígeno produciéndose así el radical superóxido y la quinona; el radical O₂⁻ puede dar origen al radical OH⁻, el cual se une al ADN y provoca su ruptura, o bien, puede provocar la peroxidación lipídica de membranas celulares (Figura 17).

La presencia de flavoproteínas que aceptan electrones del NADH o del NADPH y luego donan estos electrones a la ADR, produce la formación de la semiquinona. En ausencia de oxígeno, la semiquinona pierde el azúcar y se forma un intermediario que es un radical libre en el C-7, el cual se une a macromoléculas (proteínas, ADN, ARN) [539,540], o bien puede reducirse de nuevo formando un producto relativamente estable C7-desoxiaiglicona, cuya estructura resonante forma el C7-metil-quinona que es un potente alquilante del ADN [M42].

El mecanismo dependiente del complejo doxorubicina-Fe²⁺ produce radicales libres mediante dos vías: en ausencia y en presencia de un sistema reductor (Figura 18). Los sitios de unión con el hierro son los átomos de oxígeno del C11 y C12 de la ADR; el hierro en estos sitios se reduce por la molécula de doxorubicina, ya sea por la oxidación de la hidroquinona o por la

oxidación del C-9 de la cadena lateral.

El complejo Dox-Fe²⁺ puede reducir el oxígeno y producir radicales superóxido, los cuales pueden originar radicales OH[•], y estos, a su vez, formar H₂O₂. Por otro lado, el complejo Dox-Fe²⁺ interactúa con el H₂O₂ y origina radicales superóxido e hidroxilo [E3], por lo que ahora la doxorubicina oxidada (Dox-Fe³⁺) regresa a su estado reducido de Dox-Fe²⁺ por medio de la presencia de un sistema reductor enzimático como lo es la NADPH citocromo P-450 reductasa (Fp) [S62], o por tioles como el glutatión reducido (GSH) [Z8]; por esta última vía no se producen metabolitos y la producción de radicales libres es indefinida cuando hay suficiente GSH (Figura 18).

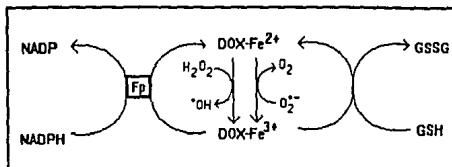
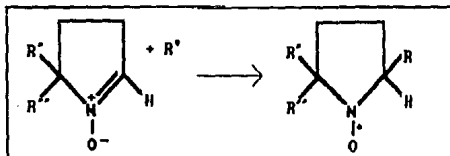


Figura 18.- Mecanismo dependiente del complejo doxorubicina-Fe²⁺ para la producción de radicales libres [K64].

En ausencia de un sistema reductor, la doxorubicina-Fe²⁺ se reduce intramolecularmente al oxidarse su hidroquinona que origina una semiquinona, o al oxidarse la cadena lateral del C-9; los electrones de la cadena lateral mantienen reducido el Fe del complejo Dox-Fe²⁺, y en presencia del oxígeno, el complejo se oxida y origina radicales O₂^{•-} [G16] y también reacciona con el H₂O₂ y forma OH[•]. La oxidación posterior de la cadena lateral origina un metabolito: el 9-dehidroxiacetil-9-carboxil doxorubicina (9-COOH- doxorubicina).

Se han podido detectar directamente los radicales libres del oxígeno por medio del método de "captación de spin" [T18], el cual consiste en el uso de una nitrona para atrapar el radical inestable produciéndose un nitróxido de vida más larga, el cual se acumula y se detecta por el método de resonancia de spin electrónico (RSE) [F18] (Figura 19).

Figura 19.- Atrapamiento del radical libre para formar el aducto spin-nitróxido [T18].



El 5,5-dimetil-1-pirrolina-1-óxido (DMPO) es un atrapador de radicales libres. Mediante el tipo de aducto formado con este atrapador, se ha visto que el metabolismo de la ADR es diferente en los diferentes tipos celulares, aunque no se ha trabajado con células de riñón. Se ha observado que en las células epiteliales traqueales de cobayo, el aducto que se forma es el 2-hidroperoxi-5,5-dimetil-1-pirrolidinoxil (DMPO-OOH) que se descompone en peroxi-5,5-dimetil-1-pirrolidinoxil (DMPO-OH) de manera enzimática [T19], ya que se ha

observado que el DMPO-OOH se biorreduce a DMPO-OH en presencia de glutatión peroxidasa [R28], que reduce hidroperóxidos a alcoholes [K56]. El hecho de que en este tipo de células no se haya encontrado DMPO-OOH, pero sí DMPO-OH, aún utilizando DMSO como atrapador de radicales OH, sugiere que el anión superóxido es el que se produce al metabolizarse la ADR en este tipo celular.

Los hepatocitos y enterocitos de rata producen semiquinonas cuya producción aumenta en condiciones anaeróbicas, y no se observa la presencia de radicales O_2^- y OH cuando decae la semiquinona, ya que es posible que existan altas concentraciones de SOD y catalasa que convierten el radical superóxido después de producirse y evitan que este se concentre y se formen aductos. Además, es probable que la glutatión peroxidasa reduzca los spin aductos del radical oxígeno a especies dimagnéticas que no se detectan con RSE [718]. Aunque aún no se entiende totalmente el metabolismo de la ADR por éstas células, ya se tienen evidencias directas de algunos de los posibles aductos del metabolismo.

Existen otros estudios que miden de manera indirecta la producción de radicales superóxido por medio de la vía xantina-oxidasa del metabolismo de las purinas, de acuerdo al aumento o disminución de los sustratos y productos de esta vía, en presencia, o no, de inhibidores de la enzima XO (Figura 20). La enzima XO es una flavoenzima ya que posee un grupo prostético de dinucleótido de flavina y adenina (FAD), con un átomo de molibdeno y 4 centros hierro-sulfurados. La XO es una enzima que cataliza la reacción de hipoxantina a xantina y de xantina a ácido úrico, dando origen a la formación de radicales superóxido [118].

Esta enzima se presenta en dos formas en los sistemas biológicos: como la enzima xantina deshidrogenasa (XDH), que cataliza la reacción de hipoxantina a xantina, pero utilizando como

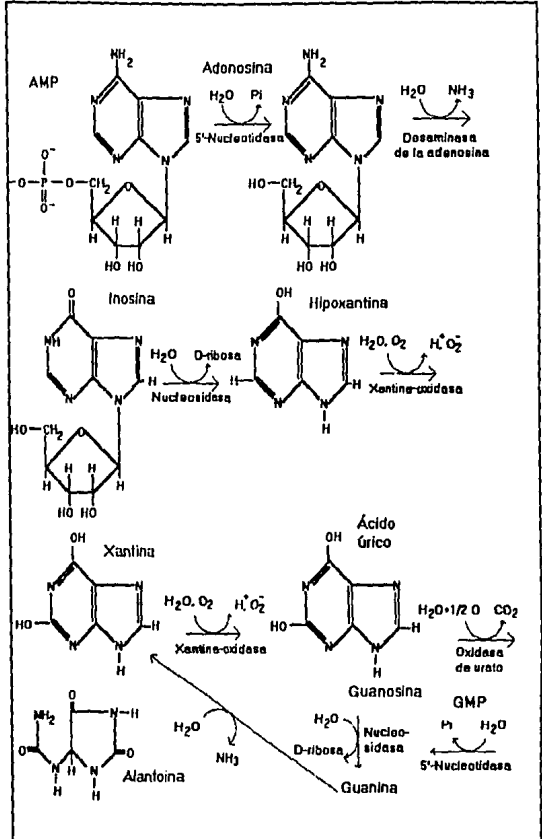
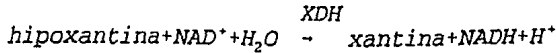
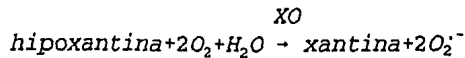


Figura 20.- Ruta del catabolismo de los nucleótidos de purina y pirimidina.

aceptor de electrones al NAD oxidado dando origen a NADH reducido:

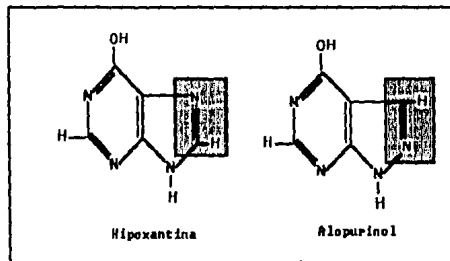


La enzima XDH es atacada por una proteasa dependiente de calcio en el citosol y la convierte a xantinaoxidasa (XO) la cual cataliza la conversión de hipoxantina a xantina pero en donde el aceptor de electrones es el oxígeno y se da la generación del radical O_2^- [039]:



Los inhibidores de la vía XO son el alopurinol y el tungsteno, y se ha demostrado que la dieta baja en contenido de proteínas (6%) disminuye la actividad de esta enzima [013,017]. El alopurinol es un compuesto que actúa como inhibidor competitivo ya que su estructura es muy semejante a la de la hipoxantina (Figura 21). El tungsteno previene la incorporación del molibdeno en la XO y XDH [16] por lo que se sintetizan enzimas catabólicas inactivas, el tungsteno per sé no presenta toxicidad en ratas [16,119].

Figura 21.- Alopurinol, inhibidor competitivo de la enzima xantinaoxidasa, debido a su parecido estructural con el sustrato hipoxantina.



Se ha visto que la actividad renal de XO y XDH aumenta en ratas con una dieta normal en proteínas (20% de proteínas) un día después de la administración de ADR y en el día de máxima proteinuria. En paralelo al aumento de la actividad de XO y XDH, se observa un aumento en la concentración de ácido úrico y xantina en la orina, mientras que no se detecta AMP en la orina [013]. Con los inhibidores de la XO, como lo son el tungsteno, el alopurinol y la dieta baja en proteínas, se observa que hay una disminución de la actividad renal de XO y XDH que correlaciona con una disminución en la proteinuria [017,013].

El tratamiento con ADR y una alimentación normal en proteínas, pero con tungsteno en la dieta, da como resultado un aumento en la concentración de xantina y AMP en orina, pero no de ácido úrico. Esto significa que al inhibir la actividad enzimática de XO, los sustratos de ésta

enzima (hipoxantina, xantina) se van acumulando, al igual que el precursor de estos sustratos (AMP), y debido a que la vía de su transformación está bloqueada, no se observa un aumento en la concentración de ácido úrico. El hecho de que la concentración de xantina aumente en orina si la vía de hipoxantina a xantina está bloqueada, muestra que hay otras vías alternativas a la del metabolismo de las purinas para la producción de xantina, como podría ser la vía del metabolismo de las pirimidinas (la vía del guanosín monofosfato) [G13], ya que ratas tratadas con tungsteno y/o alopurinol desarrollan mediana proteinuria aún en ausencia de actividad de XO y XDH en tejido renal [G17], lo que sugiere que existen otros mecanismos activos en presencia de alopurinol y tungsteno para el mantenimiento de la proteinuria.

Con la dieta baja en proteínas, se observa una disminución de la actividad renal de XO y XDH después de la administración de ADR; en orina se observa una disminución en la concentración de ácido úrico, y alantoina, y un aumento en la concentración de AMP, siendo evidencias de que la vía XO está inhibida en esta condición [G13]. La dieta baja en proteínas disminuye la proteinuria en pacientes nefróticos [R32] y en el modelo experimental de ADR [R12] además de que en éste último hay disminución en la incidencia de glomerulosclerosis [R12]. Las ratas macho Sprague-Dawley (185-200 g) inyectadas con ADR (5 mg/Kg de peso corporal) y alimentadas con una dieta baja en proteínas (6%) muestran una completa prevención de la proteinuria y del daño glomerular [R12] sin que exista un cambio en la hemodinámica glomerular, mientras que el mismo tratamiento en ratas Wistar hembra produce proteinuria moderada [B38]. Se ha observado una leve disminución en la diferencia de la presión media hidráulica transcápilar (ΔP) en ratas tratadas con ADR y una dieta baja en proteínas [M39], esto, aunado al hecho de que la dieta baja en proteínas en el tratamiento con ADR previene la proteinuria y el daño glomerular con un cambio en el FPR pero no en la VFG [R12], son una evidencia de que es posible que no haya una implicación hemodinámica como efector de la proteinuria en el modelo por adriamicina, sin embargo una mayor reducción en la diferencia de la presión media hidráulica transcápilar (ΔP) obtenida por los inhibidores de la enzima convertidora de angiotensina (ECA), no se asocia con la disminución de la proteinuria en el tratamiento con ADR [G39].

Por otro lado se ha informado que las ratas tratadas con ADR y una dieta alta en proteínas (35% de proteína) presentan un aumento en la permeabilidad de la MBG en comparación con ratas tratadas con ADR y dieta normal en proteínas (20% de proteína). Esta diferencia se debe a cambios hemodinámicos (aumento de la VFG y del FPR) [R11], posiblemente aunados a cambios de la barrera selectiva de carga [B37], pero no a cambios en la barrera selectiva de tamaño [R11].

En conclusión, no existe un solo mecanismo para explicar el efecto nefrotóxico de la ADR. Se han propuesto diferentes vías que posiblemente puedan estar relacionadas en la formación de la semiquinona inestable, o por la acción de enzimas como la XO, o mediante otro mecanismo que no incluya esta vía. El incremento en la actividad de XO puede derivar de un efecto estimulador directo de la ADR sobre el tejido renal, o es posible que la ADR intervenga directamente aumentando los niveles de hipoxantina y xantina (sustratos de la XO). Cualquiera de estas vías, o una combinación de las mismas podría formar parte de la ruta metabólica de la producción de radicales libres por ADR.

B) Modelo experimental de SN por suero nefrotóxico (SNT).

En el SN por SNT los leucocitos polimorfonucleares y monocitos son mediadores esenciales para el mecanismo de daño. Los granulocitos causan daño por secreción de enzimas lisosomales que se han detectado en la orina de pacientes con glomerulonefritis [52]. Los neutrófilos producen radicales inestables de oxígeno como superóxido, peróxido de hidrógeno e hidroxilo cuando son estimulados, por lo que la liberación de enzimas lisosomales no es la única forma en la que causan daño [F2].

Se ha propuesto que los metabolitos tóxicos del oxígeno tales como el peróxido de hidrógeno (H_2O_2) provocan daño glomerular en la nefritis por SNT [R9], estimulando la hidroperoxidación de lípidos en riñón [A7]. Las evidencias son las siguientes: La superóxido dismutasa (SOD), que es un atrapador del radical aniónico superóxido (RASO), tiene un efecto antiinflamatorio en estas ratas [M22], la administración exógena de la SOD y su acumulación en el riñón favorecen su efecto antiinflamatorio de larga duración [M22]. La administración diaria de SOD suprime el nivel de hidroperoxidación lipídica y evita que se incremente la proteinuria [A7].

La administración de catalasa reduce la proteinuria temprana y el daño glomerular, el tratamiento de ratas con catalasa produce 75% de protección en contra de la lesión glomerular [R9]. La eficacia de la catalasa apoya la hipótesis de que el (H_2O_2) de neutrófilos activados modula el daño glomerular. Se ha observado que la SOD y la PEG-catalasa disminuyen la proteinuria en el modelo con SNT [citado en D19].

Las evidencias en contra del mecanismo de acción anterior son las siguientes: No se ha encontrado ningún efecto de la administración de SOD en la albuminuria y otros aspectos del daño en el modelo con SNT [W10]. La SOD no reduce la proteinuria temprana y el daño glomerular en el modelo por SNT [R9]. La utilización de DMSO, que es un atrapador de radicales hidroxilo (OH), no presenta efecto alguno sobre el daño glomerular [R9].

Estas diferencias encontradas posiblemente se deban a las diferencias en los modelos experimentales utilizados por los autores respecto a la especie, tamaño, sexo y edad de los animales; así como la vía y el tiempo de administración de la SOD.

La inyección intravenosa (i.v.) de SOD se depura más rápidamente (vida media en circulación de 6 minutos) en comparación con la inyección intramuscular (i.m.) de SOD, la cual se mantiene mayor tiempo en circulación. Con la administración i.v. de SOD se observa que, después de una hora, el 70% de la actividad se concentra en la corteza renal (en la corteza renal se encuentra la mayor concentración de SOD en su forma activa [M22]) y aparece en pocas cantidades en orina, mientras que con la administración subcutánea (s.c.) se observa que la SOD en suero se encuentra en exceso seis horas después de la inyección [A7]. La inyección intraperitoneal (i.p.) aumenta la concentración en suero de SOD en las dos primeras horas la cual disminuye poco a poco. La biodisponibilidad de SOD después de una inyección i.p. es similar a aquella después de una inyección subcutánea. La SOD no causa toxicidad tisular ya que es un inmunógeno débil [M22].

Además de los radicales libres, las prostaglandinas también se han estudiado como posibles mediadores de la proteinuria en éste modelo experimental. La inhibición de la síntesis de prostaglandinas por indometacina reduce la proteinuria en ratas con SN por SNT. La indometacina inyectada por sí sola a ratas normales no altera significativamente la presión arterial, ni la VFG, pero sí reduce 95% la excreción de prostaglandinas PGE_2 en orina [N13].

En el SN el tamaño de las moléculas que cruzan la barrera de filtración es mayor de 42

Å, cuando se administra indometacina hay una restauración parcial de la selección de tamaño glomerular, ya que el tamaño molecular para cruzar la barrera disminuye a un nivel comparable con ratas normales, aunque permanece elevado para un tamaño mayor de 54 Å [N13]. En humanos con SN, la indometacina disminuye la depuración de proteínas, lo cual correlaciona con la disminución en la VFG, con el flujo sanguíneo renal, y con la disminución urinaria de PGE₂, lo que resulta en la disminución del paso de albúmina y gamma globulinas [N13]. Las prostaglandinas juegan un papel importante en la hemodinámica glomerular en el SN inducido por SNT, aunque se ha sugerido que la inhibición de la síntesis de prostaglandinas vasodilatadoras, más que la inhibición de la síntesis del vasoconstrictor tromboxano, es la determinante de la respuesta hemodinámica a la indometacina. En realidad, aún no hay resultados consistentes ya que contrario a lo anterior, se ha observado disminución en la proteinuria y en la excreción urinaria de PGE₂, PGI₂, TxB₂ sin observar cambios en la velocidad de filtración [27].

C) Modelo experimental de SN por aminonucleósido de puomicina (ANP).

El aminonucleósido de puomicina (6-dimetilamino-9-(3'- amino-3'-desoxi-β-D-ribofuranosil) purina) [B5] (Figura 22), es un derivado de la puomicina (6-dimetilamino-9-(3'-p-metoxi-L- fenilalanilamino-D-ribosil)-purina). La puomicina se obtiene del hongo actinomicete *Streptomyces alboniger*; se presenta de forma cristalina y transparente en el suelo donde vive el hongo, o bien en algunos medios de cultivo puede presentarse de color negro oliváceo [P26]. La puomicina, conocida también como acromicina, fué utilizada como antibiótico en el tratamiento de la tripanosomiasis [P26]; además, la puomicina tiene actividad inhibitoria irregular en el crecimiento de tumores experimentales [T15]. La puomicina se ha administrado a pacientes con cáncer en dosis de 250-750 mg/día en un total máximo de 128 g lo que ha causado náusea y vómito, y ocasionalmente diarrea, pero no un efecto anticancerígeno consistente [W25]. La puomicina es un inhibidor de la síntesis de proteínas debido a que su estructura es muy semejante al aminoacil ARN de transferencia (aminoacil-ARNt), lo que impide la unión del fragmento aminoacil-ARNt al sitio A del ribosoma [L20], y evita la transferencia de aminoácidos del ARNt a la proteína [22], es decir, que el crecimiento de la cadena peptídica se interrumpe en el ribosoma [M44,R1], lo que permite la formación de pequeños péptidos a partir de los aminoácidos unidos

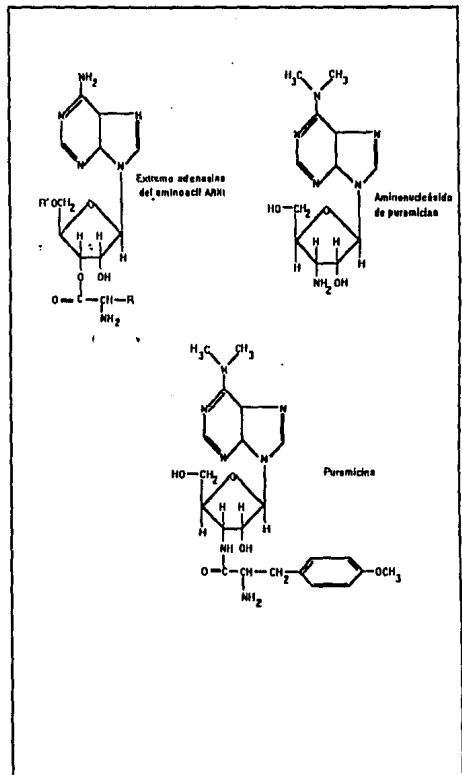


Figura 22.- Puomicina, aminonucleósido de puomicina y extremo adenosina del aminoacil ARNt (N7).

originalmente al ARNt [N8] (Figura 22).

El ANP fue sintetizado en 1954 por Baker [B5] a partir de la hidrólisis del residuo p-metoxitirosil unido al grupo amino del azúcar de la puromicina [W21]. La estructura del ANP está constituida por dos partes: un anillo de purina con un grupo dimetilamino en la posición 6, y un aminoazúcar desoxirribosídico en la posición 3' [B54] (Figura 22). Se ha observado que ninguna de las partes estructurales constituyentes del ANP por si sola es el agente nefrotóxico, y ni aún administrando las 2 partes por separado puede obtenerse una síntesis del ANP capaz de producir nefrotoxicidad, por lo que solo el ANP integro tiene esta capacidad [B54]. El ANP presenta una actividad de tripanicida de tres a cuatro veces mayor que el de la puromicina e inhibe el crecimiento tumoral mamario en ratones mejor que la puromicina [H46]. También se ha administrado a pacientes con cáncer y parece más tóxico que la puromicina, las dosis diarias de 3-4 mg/Kg (100-200 mg) por 15-30 días causan severa proteinuria y descamación de las superficies ventrales de manos y pies. La proteinuria desaparece cuando se suspende la droga y no hay evidencia de actividad terapéutica [citado en K15]. La explicación de las diferencias en las actividades biológicas de la puromicina y el ANP no está clara; y ambos parecen no tener un efecto importante en la proliferación celular in vivo como acción terapéutica en contra del cáncer en el hombre.

Muchos autores se refieren indistintamente a la puromicina y al ANP [B40,H23], esto ha creado cierta confusión, ya que, aunque el mecanismo de acción aún no está definido para el ANP, se sabe que inhibe la síntesis de ARN pero no la síntesis de proteínas [R1,N7,F3] como se ha descrito para la puromicina [N7]. El ANP, a diferencia de la puromicina, no presenta efecto en la incorporación de aminoácidos dentro de la proteína total celular [R1] o sobre la actividad de los sistemas sintetizadores de proteínas libres [N7]. El mecanismo por el cual el ANP interfiere con la síntesis de ARN no se conoce, pero se ha sugerido que el ANP interfiere en la ruta del metabolismo de las purinas, bloqueando las vías enzimáticas necesarias para la síntesis de ácidos nucleicos y nucleoproteínas [D19,H13].

No parece que la patogénesis del ANP se base en una reacción antígeno-anticuerpo ya que la ACTH, la cortisona y la inhibición de la formación de anticuerpos por rayos X, no pueden prevenir el SN, por lo que el ANP debe actuar por interferencia directa con algún aspecto del metabolismo renal [W20].

Distribución del ANP en el organismo.

Se ha estudiado la distribución del ANP en cobayo 8 hr después de su administración, y se ha observado que el 0.3% de la dosis administrada se localiza en riñón y 0% en plasma, lo que demuestra que sólo un pequeño porcentaje del ANP administrado se localiza en el blanco de acción que es el riñón, y el resto se distribuye en los diferentes órganos y fluidos corporales como se muestra en la siguiente tabla (Tabla 2) [N2].

Tabla 2
Patrón de Distribución y Excreción del ANP (aminonucleósido-8-¹⁴C) en el cobayo (8 hr)

Organo o Fluido	% de la dosis administrada.		
	Exper. I	Exper. II	Exper. III
Orina	40.7	42.4	52.2
Heces, intestino delgado y su contenido	24.1	31.1	27.7
Estómago y su contenido	1.1	1.0	4.7
Intestino grueso y su contenido	0.6	1.8	0.6
Sangre (Plasma)	1.1 (0.0)	0.4 -	- -
Bilis	0.1	-	-
Hígado	1.5	1.8	3.9
Riñones	0.3	0.3	-
Pulmones	0.2	-	-
CO ₂	1.8	0.0	1.9
Corazón	0.0	-	-
Adrenales	0.0	-	-
Total	71.5	78.8	91.0

Tomado de la referencia [N2].

Excreción del ANP.

En cuanto al tiempo de excreción, el 80% de la inyección de ANP se excreta en 24 hr, la mayoría dentro de las primeras 8 hr. [A12,D11,N2]. En varios estudios se ha visto que ratas que han recibido dosis de ANP marcado radiativamente, desde el primer día presentan 65-70% de la radiactividad total en orina a las 8 hr y 40 hr después se excreta el 2% (a las 48 hr) [A12]. Otros autores han observado que casi el 90% de ANP es excretado en orina en 8 hr y, de éste 90% el 60% se excreta en 1 hr [D11].

En otro estudio, se encontró que en especies susceptibles como la rata después de 8 hr de la administración de ANP marcado, el 65% de la marca total radiactiva se presenta en orina y el 27-30% de la marca total se presenta en heces [N2]. Del 65% de la marca en orina, el 40% es ANP intacto y el 60% son metabolitos principalmente alantoina (21.8% de la radiactividad total en orina), monometil derivado del ANP (MMDANP, 21.2%), adenosin derivado del ANP (ADANP, 0.9%), ácido úrico (0.8%), y un porcentaje menor de los metabolitos 6-dimetil-aminopurina, 6-metil-aminopurina, adenina y compuestos no identificados, no se encontró inosin derivado del ANP (IDANP) [N2]. Aquí el único metabolito que presentó efecto nefrotóxico fue el MMDANP. El porcentaje de la marca radiactiva recuperada entre orina y heces

fué del 92-95% del total de la dosis [N2]. En otro estudio se encontró, además de los metabolitos anteriores (con excepción del ADANP), xantina, hipoxantina, e hidroxiaminopurinas como 8-hidroxi-6-aminopurina (8-OH-6-AP), 2,8-hidroxi-6-aminopurina (2,8-OH-6-AP), 2-hidroxi-6-metilaminopurina (2-OH-6-MAP) y 2,8-hidroxi-6-metilaminopurina (2,8-OH-6-MAP) [D11].

Se ha observado que en especies no susceptibles como el cobayo, del 41 al 52% del total de la marca radiactiva del ANP inyectado 8 hr antes aparece en orina y el 24-31% en heces. Del ANP excretado en la orina, el 60% es ANP intacto y el 30% son metabolitos, principalmente alantoína (13% del total de radiactividad en orina), MMDANP (5.85%) y ácido úrico (1.6%) como metabolitos mayores, y porcentajes menores de otros metabolitos como urea, 6-dimetil-aminopurina, 6-metil-aminopurina, adenina, hipoxantina y compuestos no identificados, no se encontró IDANP. Ninguno de estos metabolitos presentó efecto nefrotóxico [N2,W21].

En el conejo, otra especie no susceptible, se ha aislado de la orina el ANP sin modificación, y los metabolitos IDANP y MMDANP éstos últimos no presentaron nefrotoxicidad [N3,W21].

Susceptibilidad del ANP.

En ambos casos se observa que aproximadamente el 50% del ANP del total administrado se elimina en orina. En realidad, los metabolitos del ANP en especies susceptibles y no susceptibles son los mismos [N2,D11] y se presenta un alto porcentaje de ANP excretado sin modificar. Lo anterior sugiere que la distribución y el metabolismo del ANP en especies no susceptibles y susceptibles es muy semejante [D11,N2,N3,W21]. Así, solo un pequeño porcentaje de la dosis administrada (0.3% encontrada en riñón de cobayo), podría ser el causante del efecto nefrotóxico que se presenta en la rata, y el hecho de que en plasma de cobayo no se haya encontrado ANP después de 8 hr de su administración apoyaría lo encontrado en otro trabajo [H38] de que no hay factores sistémicos que influyan en la acción del ANP en ratas.

Metabolismo del ANP (Ruta Metabólica de las Purinas).

Se ha propuesto que el metabolismo del ANP *in vivo* se lleva a cabo de una manera semejante al ciclo metabólico de las purinas [N2]. Debido a que la estructura del ANP es parecida a la adenosina, existe la posibilidad de que se metabolice de manera similar a las purinas (Figura 23) [N2]. Así, es posible que el ANP sufra una desmetilación por medio de enzimas microsomales de hígado originando el metabolito MMDANP, el cual, por medio de la acción enzimática de esta misma desmetilasa de los microsomas de hígado, origina el compuesto ADANP [N2]. Hay una diferencia en las velocidades de desmetilación de estas desmetilasas, ya que la primera que transforma el ANP en MMDANP es mucho más veloz que la segunda, por lo tanto, el primer paso de desmetilación es muy rápido debido a que las aminas secundarias son desalquiladas más lentamente que las aminas terciarias [M25]. *In vivo*, la desmetilación de ANP a MMDANP es cuatro veces más rápida en la rata que en el cobayo [N2], lo que está de acuerdo con otros estudios *in vitro* [M21], en donde se muestra que la desmetilación de ANP está aumentada 2.9 veces más que en los microsomas de hígado de cobayo.

El ADANP obtenido de la desmetilación del MMDANP, que vendría siendo el equivalente de la adenosina en el ciclo de las purinas sufre desaminación del grupo amino en la posición 6 por medio de la enzima desaminasa de la adenosina (DAA) y origina el compuesto IDANP, que vendría a ser el análogo de la inosina. El análogo de la inosina da origen a la hipoxantina por

acción de una nucleosidasa (NSasa) que corta el enlace ribosídico, la cual es un metabolito del ciclo de las purinas. A partir de este momento, todos los metabolitos que se forman a partir de la hipoxantina, constituyen parte del ciclo metabólico de las purinas. Así, la hipoxantina, por medio de la acción de la enzima XO a partir del agua y oxígeno, genera radicales libres del oxígeno y un metabolito denominado xantina que, por acción de la XO, origina ácido úrico y radicales superóxido. El ácido úrico sería el resultado del metabolismo de las purinas en primates, por medio de la enzima oxidasa de urato (uricasa), origina alantoína, que es el producto final del metabolismo de las purinas en otros mamíferos no primates.

El hecho de que en la rata se haya encontrado mayor porcentaje de MMDANP, con respecto al porcentaje de MMDANP encontrado en cobayo, se debe a que la velocidad de desmetilación de las enzimas desmetilasas de los microsomas de hígado de cobayo es menor a la de rata [N2].

El aumento en la concentración de MMDANP en rata puede sugerir que este fuera el metabolito tóxico. Para demostrar que el MMDANP fuera el posible metabolito nefrotóxico del ANP, se han utilizado inhibidores y activadores de la enzima desmetilasa microsomal de hígado, tanto *in vitro* como *in vivo*, y se ha encontrado que los inhibidores tales como el alfa-naftilisotiocianato (ANIT) [D13] no reducen la nefrotoxicidad, aunque en este experimento la inhibición no fue del 100%. Además, en otros estudios *in vitro* con el inhibidor SKF 525A, que inhibe la desmetilación de ANP *in vitro*, ó con el activador fenobarbital que estimula la actividad de desmetilasas en microsomas de hígado de rata aislados [N1] indican que estos inhibidores y estimuladores de las enzimas de los microsomas hepáticos que metabolizan el ANP no tienen efecto en la nefrotoxicidad del ANP, ni en la determinación del tiempo y severidad de la proteinuria. Con estos experimentos puede decirse que la nefrotoxicidad del ANP no está primordialmente mediada por su conversión a MMDANP [D13].

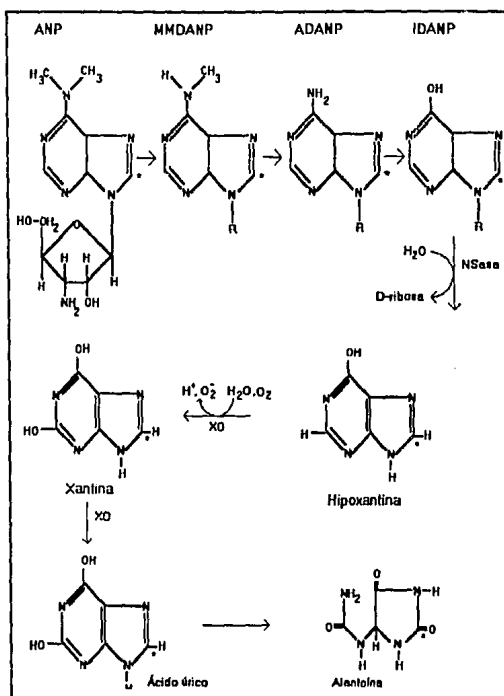


Figura 23.- Ruta de degradación metabólica del ANP en la rata y cobayo. Posición del ¹⁴C-marcado (*), R=3'-amino-3'-desoxi-β-D-ribofuranosil [N2].

En un trabajo más reciente, se estudió el metabolismo del ANP in vivo e in vitro (ensayo enzimático mediante una vía metabólica artificial, y metabolismo del ANP en una preparación de glomérulos) [1012]. En los estudios in vivo, se encontró mediante cromatografía de columna de alta resolución conocida como HPLC (del inglés "high-performance liquid chromatography") y por espectroscopia de resonancia magnética nuclear (RMN), que en la orina de las ratas tratadas con ANP los principales metabolitos eran MA-Ado (equivalente a MMDANP) y DA-Ado (equivalente a ANP sin modificación). Estos constituyeron el 50% del ANP inyectado, y la fracción de DA-Ado constituyó el 70% del total de la excreción urinaria [1012]. El ANP puede ser metabolizado in vivo por células endoteliales o mesangiales que contengan desmetilasas. Esto apoya el concepto de que el ANP es activamente citotóxico en el riñón a través de su análogo MA-Ado siguiendo la transformación de los sustratos para la XO y metabolizarlos a ácido úrico. De esta manera se propone que el metabolismo del ANP es mediante la vía de las purinas, esto se apoya con los experimentos in vitro, en donde asemejando una vía metabólica artificial se estudió el metabolismo del ANP y de los dos productos del ANP encontrados en la orina de las ratas el DA-Ado y el MA-Ado por las enzimas del ciclo de las purinas: desaminasa de la adenosina (DAA), nucleosidasa (NSasa), xantina oxidasa (XO), observándose que en este sistema, el ANP y el DA-Ado no son sustratos para cada una de estas enzimas o para la mezcla de éstas, sin embargo, el MA-Ado se transformó por medio del siguiente esquema enzimático $DAA \rightarrow NSasa \rightarrow XO$ a ácido úrico [1012]. En el experimento in vitro en donde se estudió el metabolismo del ANP, del DA-Ado y del MA-Ado en glomérulos aislados (en los cuales se encuentran las enzimas del ciclo $DAA \rightarrow NSasa \rightarrow XO$ y desmetilasas) se observó una eficiencia de la conversión de MA-Ado a hipoxantina (cuando disminuye 79% MA-Ado, la hipoxantina aumenta en un 79%), y una conversión del 20% de DA-Ado a hipoxantina. Algo de ANP es transformado en los precursores de ácido úrico, pero la mayor parte de ésta molécula no se transforma por el tejido renal. La conversión del ANP a hipoxantina in vitro en el glomérulo se lleva a cabo en varias horas (más de dos horas) [1012], a diferencia del metabolismo del ANP en el glomérulo in vivo que se lleva a cabo en pocos minutos [1138]. Estudios preliminares de la generación de radicales libres del ANP por CEG in vitro [K26] han dado el apoyo teórico para la teoría de que el metabolismo del ANP in vivo se realiza a través de la vía de las purinas.

Mecanismo de acción del ANP.

Se ha postulado la hipótesis de que los radicales libres producidos por la degradación del ANP vía xantina oxidasa, son los responsables del efecto nefrotóxico del ANP.

Evidencias a favor de la producción de radicales libres como mecanismo de acción del ANP:

Tomando en cuenta que la enzima encargada de la formación de radicales superóxido a partir del sustrato xantina/hipoxantina es la XO, y que uno de los productos del metabolismo del ANP es la hipoxantina [N2], se ha informado que la administración de alopurinol, un inhibidor de la XO, a ratas tratadas con ANP, disminuye (no previene) la proteinuria y las características del SN [1016]. El alopurinol tiene una vida media más larga que la XO y su principal metabolito, aloxantina, se excreta entre 18 y 30 horas [F23]. Sin embargo, la interferencia del alopurinol con otros procesos celulares no se excluye, ya que se ha reportado que inhibe la 5'-nucleotidasa [B68], la inhibición de ésta, contradictoriamente al efecto anterior del alopurinol, correlaciona con la pérdida de componentes de superficie, fusión de podocitos y desprendimiento epitelial; ya que

se ha observado que los nucleótidos desfosforilados son inhibidores competitivos del ANP, la inhibición de esta enzima podría aumentar el efecto del ANP [B40].

Se ha reportado que la administración de SOD a ratas tratadas con ANP disminuye la proteinuria y las alteraciones morfológicas glomerulares [D16,B19], lo cual demuestra indirectamente que el ANP aumenta la concentración de radicales libres del oxígeno. El efecto de la SOD es corto ya que su vida media circulante es de quince minutos [G38].

La catalasa, enzima que cataliza la descomposición de peróxido de hidrógeno (H_2O_2) en H_2O y O_2 , reacción generalmente asociada a la de la SOD, es una enzima que cuando se administra por vía i.p. y acoplada a polietilenglicol (PEG-catalasa), el cual prolonga la vida media de la catalasa de 3-5 minutos a 24 hr, disminuye la proteinuria en ratas tratadas con ANP [A6,B19]. La administración i.v. de catalasa (ratas control) o bien i.p. en ratas tratadas con ANP pero sin acoplar la catalasa a PEG, no tiene efecto alguno sobre la proteinuria [D16,B19].

La participación de los radicales $OH\cdot$ se observa cuando se utiliza benzoato de sodio (BENZ) o dimetiltiourea (DMTU), que son atrapadores de radicales $OH\cdot$, o el quelante de hierro desferroxamina (DFO), ya que el hierro como catalizador forma parte de la reacción capaz de formar radicales $OH\cdot$ a partir de la interacción entre el anión superóxido y el peróxido de hidrógeno [W14,H5,A22]. El tratamiento de ratas con ANP y la administración por separado de BENZ, DMTU, o DFO disminuye la proteinuria [T3].

Se ha observado que la inyección i.p. de ANP a ratas, induce, además de la proteinuria, un aumento en la producción de tromboxanos (TxA_2) y leucotrienos (LTs) a partir del ácido araquidónico (constituyente de fosfolípidos) en rebanadas corticales renales y en el glomérulo, y aumenta los niveles de malondialdehído en plasma (MDA), orina y corteza renal [S34]. El MDA es un producto de la acción de los radicales libres del oxígeno sobre las membranas [E11].

La administración de un compuesto llamado CV-6504 (HCl), que es un inhibidor de la TxA_2 sintetasa de la 5-lipoxigenasa y de la peroxidación lipídica, disminuye la proteinuria y los aumentos en estos tres mediadores (TxA_2 , LTs, $O_2\cdot^-$). Esto sugiere, que estos están involucrados en la patogenia de la nefrosis por ANP, ya que la administración de compuestos que inhiben la acción de estos tres mediadores por separado o en parejas, no reducen la proteinuria, es la combinación de la inhibición de estos tres la que reduce la proteinuria por ANP. Aunque el mecanismo detallado de la interacción entre TxA_2 , LTs y radicales libres del oxígeno no están claros, es posible que estos tres estén involucrados en la iniciación y desarrollo de la nefrosis por ANP [S34].

Se esperaría que la administración de DMSO (un atrapador de radicales $OH\cdot$, que son muy potentes y están involucrados en la peroxidación lipídica de membranas) a ratas tratadas con ANP disminuyera la proteinuria, sin embargo, se ha visto que no presenta acción alguna [D16] o bien, que contrario a lo esperado aumenta la proteinuria [S46]. Este aumento puede ser secundario a que el DMSO aumenta la permeabilidad de las membranas, y a que, *in vitro*, el DMSO más radicales $OH\cdot$ originan unos segundos radicales metil y peroximetil que promueven y sostienen la peroxidación [R5], e *in vivo* aumentan la permeabilidad vascular y/o inducen el daño endotelial [S46]. La falta de efecto del DMSO [D16] o su efecto de aumentar la proteinuria [S46] puede deberse a diferencias metodológicas: en la vía de administración (i.p. [S46] contra i.v. [D16]), la forma de administración (diaria [S46] ó bien 30 minutos antes y después de la administración de ANP [D16]).

Metabolismo del ANP

(Evidencias en Contra de la Ruta Metabólica de las Purinas).

En base a los antecedentes descritos, podría esperarse que la administración de hipoxantina a ratas, aumentara la actividad enzimática de XDH a XO en tejido renal, y que el aumento de esta actividad diera un aumento en la concentración de ácido úrico y alantoína (metabolitos finales de la vía en orina), así como un aumento en la concentración de radicales libres del oxígeno que provocara proteinuria y características similares al SN secundario a ANP. Después de la administración de hipoxantina se recobró en la orina de 24 hr, del 15-20% de hipoxantina y 75% de sus derivados: xantina, ácido úrico y alantoína [017]. Con estos datos, se observó que el metabolismo de la hipoxantina es por vía del ciclo de las purinas, posiblemente a través de la XO, ya que se obtuvo xantina, ácido úrico, y alantoína en el tejido renal. No hubo un cambio en la actividad de XO en tejido renal después de la administración de hipoxantina. Las ratas con hipoxantina siempre fueron normoproteinúricas en los dos meses de observación del estudio.

El hecho de que las ratas tratadas con hipoxantina no presentaron proteinuria, ha sugerido que existen otros factores además de la formación de radicales libres del oxígeno que intervienen en la proteinuria, o bien que es posible que se deba a la formación de radicales libres por otra vía y que por esto, no se observó cambio en la actividad de XO al administrar la hipoxantina. Cuando se administró ANP a ratas se observó que las concentraciones en el tejido renal de los productos intermediarios del metabolismo del ANP: hipoxantina, xantina, ácido úrico, alantoína y sus precursores adenosina e inosina, fueron menores que los valores basales [017]. La excreción urinaria de estos productos intermediarios fué menor 24 hr después de la administración del ANP si se compara con el nivel basal, y regresó a niveles normales en 5 días. No hubo cambio de la actividad de XO lo cual indicó que el ANP no indujo la transformación de XDH a XO [017]. En ratas nefróticas con alimentación normal y complementadas con tungsteno se disminuyeron las actividades de XO y XDH al 20% de los valores basales, sin embargo, la inhibición de la XO y XDH renal por tungsteno no redujo la proteinuria por ANP [017], lo que sugiere que el metabolismo del ANP in vivo sigue una vía diferente al metabolismo del ciclo de las purinas.

El bloqueo de la enzima limitante en la velocidad de desmetilación, la desmetilasa, debería conferir protección en contra de la proteinuria en este modelo, sin embargo, la inhibición de la desmetilasa microsomal por alfa-naftilisotiocianato (ANIT) o por SKF-525A in vivo, no reduce la proteinuria en ratas tratadas con ANP como ya se había descrito anteriormente [013], esto último sería un argumento en contra del metabolismo del ANP vía ciclo de las purinas.

Por otra parte, se estudió el metabolismo del ANP, del DA-Ado y del MA-Ado en células epiteliales glomerulares en cultivo (CEG) [012]. En estas células sólo el 10% del MA-Ado se convierte a hipoxantina, y no se observa metabolismo del DA-Ado y del ANP. Las CEG no son el sitio para transformar el MA-Ado ni el DA-Ado a pesar de que más del 50% de estas dos moléculas entran en las células. La falta de conversión del ANP, y del DA-Ado a hipoxantina por CEG sugiere la ausencia de desmetilasas en éstas células, posiblemente debido a un artefacto in vitro. El ANP, DA-Ado y el MA-Ado son citotóxicos en CEG in vitro, en ningún caso el uso del alopurinol, catalasa, ni desferroxamina (quelante de metales) tienen efecto protector contra la citotoxicidad [012].

El hecho de que en el sistema de cultivo de CEG, no se haya encontrado evidencia de un metabolismo del ANP mediante el ciclo de las purinas (ya que no se encontró el metabolito

intermediario hipoxantina) y debido a la alta toxicidad del ANP, DA-Ado y MA-Ado para estas células, se propone que existe otra vía del metabolismo del ANP que induce la toxicidad en CEG.

Otros estudios han demostrado que las CEG son el blanco de la citotoxicidad del ANP *in vitro*, ya que se produce desprendimiento focal de células, alteración en la síntesis de polianiones y cambios en la renovación de glicosamina [F20].

Las conclusiones de los trabajos que proponen un posible metabolismo del ANP mediante la vía de la purinas [G12] parecerían estar en contra de la sugerencia de estos mismos autores de que el metabolismo del ANP se lleva a cabo mediante una ruta diferente a la vía de las purinas [G12,G17], sin embargo, estos trabajos no son contradictorios, y en realidad no son trabajos que pueden compararse, ya que el utilizar diferentes metodologías y diferentes sistemas experimentales no permite compararlos y relacionarlos entre sí.

Compuestos análogos del ANP y sustancias que modifican la proteinuria.

Existen compuestos análogos del ANP, es decir, compuestos muy semejantes al ANP pero que presentan modificaciones químicas, muchos de los cuales se consideran inhibidores del efecto nefrotóxico del ANP o bien compuestos capaces de tener una acción semejante a la del ANP, es decir, que inducen el SN.

Se ha reportado que la adenina [D12,H13,H9], la N-metiladenosina (MMA) [D12,H23,B54,A11,H8], la dimetiladenosina (DMA) [D12,B54,A11,H8], la adenosina [H8], la N⁶-metilaminopurina [D12] y nucleótidos desfosforilados [W21], inhiben o disminuyen el efecto nefrotóxico del ANP ya que disminuyen la proteinuria y previenen algunas de las características del SN.

Dependiendo de la dosis de ANP y de las dosis utilizadas de algunos inhibidores, es el efecto de disminución o prevención de la proteinuria. Se ha observado que los siguientes compuestos en una dosis molar equivalente a 200 mg/Kg de MMA no reducen la proteinuria causada por 100 mg ANP/Kg: adenosina, adenina, 2,6-diaminopurina ribosido, 2,6-diaminopurina y N-acetil-AP. También se observó que dosis altas de MMA no aumentan la capacidad para reducir la proteinuria lo que indica que solo una determinada cantidad de MMA es capaz de competir y ganar el sitio blanco del ANP, o bien que el MMA se transforme en un metabolito activo mediante un proceso que pudiera ser limitado velozmente [D12].

Algunos compuestos como el DMA, el 3'-aminoadenosina y la adenina en altas dosis presentan un efecto tóxico [B54].

Estructuralmente, el MMDANP y el ANP, ambos nefrotóxicos [W21], y el DMA y el MMA, ambos inhibidores de la nefrototoxicidad de ANP, difieren solo en la posición 3'- de la mitad del azúcar. Los compuestos nefrotóxicos tienen un grupo amino en esta posición, mientras que los compuestos inhibitorios tienen un grupo hidroxilo. Entonces, parecería que el MMA y el DMA, o un "metabolito activo", compiten con el ANP o su "metabolito activo" en el sitio blanco, reduciendo la efectividad del ANP [D12]. Sin embargo, no se conoce el mecanismo por el cual estos compuestos inhiben el efecto nefrotóxico del ANP, pero se ha propuesto que estos compuestos actúan como antimetabolitos del ANP [H9], o bien que hay una interferencia o competencia entre el ANP y los compuestos relacionados con la adenina [H13]. Es decir, podría presentarse algún efecto en alguna fase del metabolismo de nucleótidos o ácidos nucleicos, ya que desde que hay una semejanza estructural entre el ANP y la adenosina, la posibilidad de que el ANP actuara como inhibidor en la formación o en las reacciones que involucran ATP, o en otra fase del metabolismo de nucleótidos, haría pensar que en este caso la administración de

derivados de purina podrían prevenir la inhibición. Conociendo que la adenina revierte el efecto antitripanizida del ANP en el ratón [H13] y que el ANP inhibe la formación de ATP a partir de fosfato inorgánico (Pi) y adenosina en una levadura [K40], se ha propuesto que el ANP actúa como un antimetabolito durante la producción de SN en ratas, alterando posiblemente la vía metabólica de la adenina [H8] ya que la administración simultánea de ANP y adenina, inhibe parcialmente el desarrollo de la nefrosis, mientras que ni la adenosina ni el ATP inhiben la acción del ANP [H9], lo que permite decir que la adenina actúa como un antimetabolito del ANP.

Así como existen compuestos análogos al ANP que producen inhibición de sus efectos, existen otros que producen SN como el metilpropiladenosin derivado, el dietiladenosin derivado y el monometiladenosin derivado (MMDANP); metabolito obtenido de la orina de organismos de diferentes especies tratados con ANP [W21].

Otros compuestos no relacionados estructuralmente al ANP, modifican la proteinuria en este modelo experimental. Por ejemplo, el captopril y otros inhibidores de la enzima convertidora de angiotensina disminuyen o eliminan la proteinuria en enfermedades renales en el humano o experimentales [H11].

Metabolismo de Proteínas

En el SN humano y experimental se han observado alteraciones en el metabolismo de proteínas plasmáticas. La concentración plasmática de una proteína específica es el resultado de un número de variables tales como su distribución corporal, síntesis, degradación y pérdidas corporales. Alteraciones en alguna(s) de estas variables contribuyen a que cada proteína presente un patrón de regulación específico durante la nefrosis [B29,B30] (Tabla 3).

I Hipoalbuminemia.

Debido a que la albúmina es la principal proteína en la orina de pacientes con SN, el mecanismo de hipoalbuminemia en el SN se ha estudiado extensamente. La hipoalbuminemia puede ser el resultado de la reducción en la velocidad de síntesis hepática de albúmina, aumento en la velocidad de su catabolismo, cambios en su distribución, disminución en la ingestión de proteínas en la dieta, pérdida en la orina, o una combinación de estos factores [B29]. La concentración de albúmina plasmática puede variar de paciente a paciente, y de tiempo a tiempo, dependiendo del balance neto entre los factores anteriores. La velocidad promedio diaria de la síntesis de albúmina por el hígado de una persona adulta está entre 12 y 20 g/Kg, y puede aumentar por lo menos tres veces [R35]. Normalmente, del 5 al 12% de la albúmina intravascular se cataboliza cada día y se repone con una misma velocidad de síntesis.

La extrapolación de datos en estudios con ratas normales sugiere que de los 2 g de albúmina que se filtran por día normalmente [S1], menos de 0.2 g se excretan por la orina y la mayoría de la albúmina se reabsorbe por los túbulos renales y se metaboliza dentro de las células epiteliales.

En humanos con SN la cantidad de albúmina en el filtrado glomerular es de 25-57 g/día [H7]. Hay estudios que proponen pérdida de albúmina plasmática en pacientes con SN a través del tracto gastrointestinal [S16] y contrariamente otros encuentran que no hay una pérdida mediante esta vía [S5]. De cualquier manera, parece que la pérdida gastrointestinal de albúmina en el SN no es el principal factor de hipoalbuminemia.

Tabla 3
Alteraciones en proteínas séricas y urinarias
en la nefrosis experimental.

Proteína	Sangre ^a	Orina ^a	Referencia.
Albumina	↓	↑	B30,P10, L22,G18
Transferrina	↓	↑	D6,A13
Glicoproteína ácida- α_1	↓	↑	D6
Ceruloplasmina	↓	↑	M4
Angiotensinógeno	↓	↑	P10, P8, P9,P11,P12
Antitrombina III	↓	↑	G18
Proteína enlazadora de vitamina D (DBP)	↓	↑	C23,K41
IgG	↓	?	B20
IgM	↑	?	B20
α_1 -Macroglobulina	↑	?	H36
Renina	↑	↑	P10,P8, P9,I1, P11,P12
ECA ^c	↑	↑	P10,I1,A18
Protrombina	↑	↑	G18
Fibrinógeno	↑	0	G18,M15
IgA	=	?	B20

↓: concentración disminuida; ↑: concentración aumentada;

= concentración sin cambio; 0: no hay excreción urinaria;

?: desconocida.

^cECA: enzima convertidora de angiotensina I.

Tomado de la referencia [P13].

1.1 Síntesis de albúmina en el SN.

Aumento en la síntesis:

Se ha reportado un aumento en la síntesis hepática de albúmina (K_{23}) y en el nivel del ARNm de albúmina hepático funcional e hibridizable en el modelo de nefrosis por ANP (P_{15},L_{22},I_7). El aumento en el ARNm de albúmina hepático y/o el aumento en la velocidad de traducción del

ARNm pueden contribuir al aumento en la síntesis de albúmina. Otros factores que pueden contribuir al aumento del ARNm de albúmina pueden ser el aumento de la velocidad de transcripción del gen de albúmina y/o una disminución en la degradación del ARNm [P15].

El uso de actinomicina D, un inhibidor específico de la transcripción [21], sugiere que el aumento en el ARNm de albúmina en ratas nefróticas por ANP se debe al aumento en la velocidad de la transcripción del gen de albúmina *in vivo* más que a una disminución en su degradación [P15]. No se sabe si eventos postranscripcionales puedan contribuir al aumento de la síntesis de albúmina *in vivo* en el modelo experimental. Sin embargo, existen estudios contradictorios al aumento en la síntesis de albúmina, así se ha reportado que en humanos y modelos animales con SN, la velocidad de síntesis de albúmina está en la parte superior del límite normal o ligeramente abajo de lo normal, si la dieta en proteína es adecuada [G21,K28].

1.2 Catabolismo de albúmina.

En estudios con animales normales, el riñón juega un papel insignificante en la degradación de la albúmina [K24], ya que menos del 10% de la albúmina se cataboliza intrarrenalmente [K24]. En pacientes con SN el sitio que aumenta el catabolismo de la albúmina parece ser el riñón [K24].

En pacientes con SN, la albuminuria y el catabolismo renal y extrarrenal de la albúmina, en presencia de una velocidad de síntesis hepática, que a pesar de no estar reducida, es inadecuada, provocan la pérdida de una gran fracción del depósito de albúmina intravascular, sin embargo, es importante enfatizar que la fracción de albúmina intravascular diaria catabolizada, está aumentada mientras que la velocidad catabólica absoluta de albúmina (en g/día) está normal o reducida [G21] y ocasionalmente puede incrementarse [K1]. El aumento en el catabolismo renal está compensado en una parte por la reducción del catabolismo en sitios extrarrenales. Cuando la proteinuria es modesta, la velocidad del catabolismo de la albúmina no aumenta marcadamente y la velocidad de síntesis es normal. A mayor velocidad de pérdida urinaria de albúmina, la velocidad catabólica de ésta aumenta tanto, como cantidades excesivas de albúmina filtrada son reabsorbidas y degradadas por los túbulos, existiendo al mismo tiempo un aumento paralelo en la velocidad de síntesis de albúmina. Por lo tanto, la síntesis de albúmina aumenta cuando la albuminuria y el catabolismo son muy marcados y la proteína en la dieta es adecuada.

La contribución renal del catabolismo de la albúmina a la hipoalbuminemia en el SN es controvertida. Algunos autores argumentan que el mecanismo catabólico tubular renal de albúmina, está saturado a niveles fisiológicos de albúmina filtrada, y que cualquier otro incremento en la proteína filtrada no puede ser absorbido y catabolizado, por lo tanto se excreta simplemente en la orina [L3]. Por otro lado, se ha demostrado un sistema dual de transporte para el atrapamiento de la albúmina [P3], constituido por un sistema de baja capacidad y un sistema de alta-baja capacidad, que permite que las velocidades de absorción tubular de albúmina se incrementen conforme la carga filtrada aumenta. El sistema de afinidad de alta-baja capacidad se enciende cuando hay un aumento en la carga filtrada de albúmina, permitiendo aumentar la absorción tubular y el catabolismo local.

1.3 Factores que modifican el metabolismo de la albúmina.

1) Presión oncótica.

La presión oncótica (PO) es la fuerza con la que una solución (en el caso de la sangre

creada principalmente por la concentración de proteínas plasmáticas, en esencia albúmina) atrae agua hacia sí; cuanto mayor sea la concentración de una solución, mayor será su presión oncótica. La vía para la estimulación de la transcripción del gen de la albúmina en el SN no se conoce. Sin embargo, hay evidencias que indican que la presión oncótica es el principal regulador de la expresión del gen de albúmina, así la síntesis de albúmina es inversamente proporcional a la presión oncótica de la solución perfundida en hígados aislados de ratas nefróticas [K23], y además, la infusión hiperoncótica de dextranas suprime la síntesis de albúmina en conejos [R36]. La presión oncótica [K23,R36] y los factores nutricionales [D34] juegan un papel importante en la modulación de la síntesis de albúmina.

2) Efecto de la dieta sobre la síntesis y catabolismo de albúmina.

En un estudio en pacientes con proteinuria masiva y una dieta complementada en proteínas y calorías, la concentración de la albúmina plasmática se encontró cercana al intervalo normal, por lo cual se propone que esto se debe a la complementación apropiada de proteínas y calorías de los pacientes [S35].

Dieta alta en proteínas:

Durante varios años, las dietas altas en proteínas se utilizaron para el manejo de pacientes nefróticos esperando que la síntesis de albúmina y su concentración en suero pudieran aumentarse [C35], sin embargo, ahora se sabe que cuando los pacientes nefróticos ingieren una dieta rica en proteínas, la excreción urinaria de proteínas aumenta, pero la concentración de proteínas en suero permanece baja [F13]. En otro estudio, se mostró que las velocidades catabólicas y de excreción aumentan a la par con la ingestión de alta concentración de proteína, y la concentración final de albúmina en suero no se afecta [K29]. Por otra parte, la alimentación con una dieta alta en proteínas en pacientes con SN, aumenta la síntesis hepática de albúmina [K28] y, contrario a los estudios anteriores, se propone que puede restaurar los niveles de albúmina en suero al nivel normal [S35].

En ratas con nefritis pasiva de Heymann el aumento de proteínas en la dieta induce la expresión del gen de albúmina a nivel transcripcional y aumenta el nivel del ARNm de albúmina [K30].

Se ha demostrado que el aumento de proteínas en la dieta causa un aumento en la secreción de glucagon [H21] y de corticoesteroides [A1]. Los glucocorticoides mantienen la velocidad normal basal de síntesis de albúmina [M45] in vivo y en cultivo de tejidos. En animales experimentales [G3] y en pacientes con SN [W16] los glucocorticoides aumentan la proteinuria.

Dieta baja en proteínas:

Se ha demostrado que en pacientes nefróticos y en modelos experimentales de nefrosis [K28,K30], la disminución de proteínas en la dieta reduce la velocidad de síntesis de albúmina, mientras que la concentración de albúmina en plasma aumenta significativamente debido a una reducción concomitante en la pérdida de albúmina urinaria con la dieta baja en proteínas, en experimentos a corto plazo [K28]. Los efectos de la dieta baja en proteínas a largo plazo en pacientes nefróticos y en modelos experimentales [D2,K30] no confirman lo encontrado a corto plazo, la proteinuria y la concentración de albúmina en suero de pacientes con SN y dieta baja en proteínas (0.7 ± 0.1 g/Kg/día de proteína), fueron similares a los obtenidos con una dieta normal de proteínas (1.1 ± 0.3 g/Kg/día de proteína) [D2]. Este resultado posiblemente se deba a que la dieta baja en proteínas fue suplementada con una mezcla de aminoácidos esenciales y sus cetoanálogos y en realidad no se puede excluir que la administración de esta mezcla pueda haber

contribuido a debilitar el efecto antiproteinúrico de la dieta baja en proteínas.

También se ha observado que en modelos experimentales con ratas, la reducción de la proteína en la dieta causa una disminución en el nivel del ARNm de albúmina [D34], y esto se revierte al proporcionar la proteína en la dieta [D34].

En resumen, la pérdida de albúmina en orina y el aumento en la velocidad de su catabolismo renal son las causas de la hipoalbuminemia en el SN, y ambas alteraciones aumentan a la par con la ingestión de una dieta alta en proteínas.

L4 Toxicidad por hipoalbuminemia.

Una consecuencia farmacológica de la hipoalbuminemia es que potencia el aumento de la toxicidad de drogas debido a la reducida disponibilidad de sitios de unión de las drogas [G50]. Muchas drogas en circulación se unen a albúmina, así, la hipoalbuminemia provoca la circulación libre de las drogas cuando estas se administran en dosis usuales.

II. Alteraciones de algunas proteínas del sistema inmune.

En pacientes con ECM los niveles en suero de IgG están muy reducidos (20% del nivel normal) y los niveles de IgM e IgA están aumentados [G14].

En la nefrosis experimental se encuentran alteraciones de inmunoglobulinas en suero, como por ejemplo la concentración de IgG está disminuida, la de IgM está aumentada, y la de IgA no cambia [B20] (Tabla 3), y se ha reportado que la síntesis de inmunoglobulinas por linfocitos estimulados por mitógenos es deficiente durante la recaída y se torna normal en la remisión [G4].

Al parecer, hay tres mecanismos responsables de los bajos niveles de IgG en el SN: pérdida en orina, alta velocidad catabólica y baja velocidad de síntesis [G21,A21].

Se ha propuesto que las pérdidas de IgG en orina de pacientes con SN participan en los cambios de éstas en suero [F18], sin embargo, el hecho de que varias subclases de IgG presentan un patrón de disminución asimétrico [S29], sugiere que la pérdida en orina no es el único factor a considerarse, y que factores metabólicos como cambios en la síntesis y catabolismo, están involucrados en la regulación de los niveles sanguíneos de IgG en el SN. De hecho, se ha encontrado que la velocidad catabólica de IgG está aumentada en el SN [W2]. Otros autores han propuesto que la ECM es resultado del desorden de los linfocitos T [S30]. Por otro lado se ha demostrado la supresión de la blastogénesis de linfocitos normales en respuesta a los mitógenos como la fitohemaglutinina (PHA) o concanavalina-A (Con A) por el suero [M40] o plasma [F24] de pacientes con ECM. Esto ha conducido a postular la aparición o la pérdida de un factor circulante en el suero que afecta la función de las células T [F24]. Además, en algunos de los estudios, el suero obtenido de los pacientes durante la remisión de la ECM pierde este efecto inhibitorio [M40]. Este efecto inhibitorio no es específico de la ECM ya que se ha observado en otras formas del SN [13]. El modelo experimental de nefrosis en ratas por ANP apoya lo anterior, el suero obtenido de ratas nefróticas después del máximo de proteinuria, inhibió la blastogénesis estimulada por PHA en linfocitos normales de rata [M40]. La naturaleza de la substancia en el suero nefrótico responsable de la supresión de la respuesta de los linfocitos no se estableció claramente, sin embargo, es posible que la hiperlipidemia pueda estar involucrada ya que las lipoproteínas de baja densidad y de muy baja densidad inhiben la proliferación de linfocitos normales en respuesta a mitógenos [C31]. Sin embargo, aún no hay evidencia de que los efectos del suero nefrótico en la función de los linfocitos estén involucrados directamente en la ECM. Se especula que

linfocitos con solapamiento de receptores en la ECM pueden funcionar como células supresoras-T y linfocitos B y es posible que sean responsables de los perfiles anormales de inmunoglobulinas en el SN [K39].

Se ha estudiado la liberación de un factor de permeabilidad por los linfocitos [S42], y se ha encontrado que la secreción de este factor de permeabilidad vascular (FPV) aumenta en los linfocitos de pacientes con ECM provocando un aumento de la proteinuria al ser inyectado en la arteria renal de la rata [L1]. En otro estudio no se reporta cambio en la liberación del FPV en cultivos de linfocitos en ECM [C47], por lo que el efecto del FPV en la permeabilidad glomerular no ha sido confirmada [L1].

Por otra parte, se ha estudiado el sistema enzimático del suero conocido como complemento, cuyos componentes proteicos se activan en presencia de complejos antígeno-anticuerpos, y cumplen entre algunas funciones las de hemólisis, fagocitosis y opsonificación. Se ha reportado que los pacientes con SN presentan niveles normales de complemento hemolítico, sin embargo existen ocasionalmente, niveles anormales de componentes de complemento posiblemente debido a la variabilidad en las velocidades de síntesis, así los niveles de C4 que son normales durante la recaída tienden a aumentar en algunos casos durante la remisión [citado en B30].

El suero de varios pacientes con SN presenta una baja capacidad de opsonizar *E. coli*; esta capacidad puede normalizarse al adicionar factor B al suero nefrótico. El factor B (o proactivador de C3), un componente de la vía alterna del complemento, está reducido durante la recaída en el SN, y se normaliza durante la remisión [M24]. La posible explicación de esta disminución del factor B en suero es su pérdida en orina, esta baja de factor B junto con la producción insuficiente de inmunoglobulinas, la respuesta inadecuada de anticuerpos, y los defectos en la inmunidad mediada celularmente promueven la gran incidencia de infecciones en el SN (Figura 10 del Capítulo 2).

Los complejos inmunes circulantes pueden estar elevados en la ECM [C1]. Sin embargo, la presencia de inmuno depósitos en el glomérulo (inmunoglobulinas) usualmente indica una enfermedad diferente de la ECM [L6].

III. Alteraciones en las proteínas acarreadoras de metales.

Se han encontrado bajos niveles de cobre (hipocupremia) y de hierro (hipoferremia) en sangre de pacientes con SN [C13]. El cobre circulante en el plasma se une casi en su totalidad a la proteína acarreadora de cobre ceruloplasmina (Cp), y de manera similar, el hierro se une a la proteína transferrina, por lo que se propone que la excreción urinaria de estas dos proteínas acarreadoras de metales en el SN, es responsable de los bajos niveles en sangre de estos metales.

En la nefrosis humana, los niveles en suero de ceruloplasmina (Cp) se han encontrado bajos [J3,M8], normales [J3,M8,S54] y altos [M8]. En el modelo experimental de SN por ANP en ratas [M4,P37] existe una disminución de los niveles plasmáticos de Cp y cobre, y un aumento en la excreción urinaria, lo que sugiere que las pérdidas urinarias contribuyen a esta disminución, sin embargo existe la posibilidad de que otros mecanismos puedan estar involucrados [M4,P37]. Por otra parte, también se han propuesto alteraciones en el transporte tubular del cobre y del zinc, las cuales probablemente estén involucradas en su alta excreción urinaria [S54,F26].

La velocidad de degradación y síntesis de transferrina aumenta en la misma proporción en pacientes con SN [J2], mientras que los niveles urinarios se encuentran aumentados [E4]. La transferrina es necesaria para el crecimiento *in vitro* de linfocitos y para la proliferación de la

línea celular de linfocitos T [W7], por lo que se ha sugerido que existe una estrecha correlación entre la respuesta anormal proliferativa de los linfocitos y la deficiencia de transferrina [W7]. Por otro lado en la nefrosis experimental, se ha informado de una baja concentración en sangre y un aumento en la concentración urinaria de transferrina [D6,A13]; sin embargo, se ha reportado un aumento en el ARNm hibridizable de transferrina en ratas con SN por ANP [17]. Esto sugiere que hay un aumento en la síntesis de transferrina pero que ésta no alcanza a compensar la pérdida urinaria.

También se ha estudiado el metabolismo del zinc en el SN experimental y humano [F26,R10,P37]. Las dos terceras partes del zinc en plasma normalmente están unidas a albúmina, por lo que es posible que la pérdida en orina del complejo albúmina-zinc, resulte en hipozincemia. En humanos se ha observado una disminución en el nivel plasmático de zinc, al igual que en ratas, solo que en las ratas esta disminución va acompañada de un aumento en la excreción urinaria de zinc. En pacientes con SN, la proporción de zinc-albúmina en el plasma aumenta, mientras que el nivel de zinc en orina es normal, lo que sugiere que la pérdida en orina de zinc unido a albúmina no es una explicación para los bajos niveles de zinc en plasma de pacientes con SN [F26,R10]. Otro estudio propone que la deficiencia de zinc en el SN puede alterar las respuestas inmunes normales, ya que el zinc es importante para la actividad biológica normal de las hormonas del timo [B26,D5].

IV. Anormalidades en la coagulación.

Se han observado cambios en las proteínas concernientes a la iniciación de la coagulación y fibrinólisis en el SN [C6,L26]. Se han encontrado alteraciones en casi todos los factores de la coagulación e inhibidores de la misma, así como defectos en plaquetas y en el sistema fibrinolítico [C6,L26]. Algunos factores de la coagulación aumentan (V, VII, VIII, X, y el fibrinógeno) y otros disminuyen (II, IX, XI, XII), y algunos inhibidores de la coagulación aumentan (α_2 -macroglobulinas) [J3] y otros disminuyen (antitrombina III, antitripsina- α_1), presentándose un aumento en la actividad del sistema fibrinolítico al reducirse la antitripsina α_1 y α_2 o bien una actividad reducida al disminuir el plasminógeno y al aumentar la α_2 -macroglobulina y la α_2 -antiplasmina (Tabla 4).

Se ha demostrado hiperactividad plaquetaria en el SN [S11,C6,L26], el conteo de plaquetas, la adhesividad y agregabilidad (espontánea o en respuesta a estímulos) se incrementa. Se piensa que la hipoalbuminemia [S11] y la hiperlipoproteinemia [C14] son factores que influyen en la hiperactividad plaquetaria. Debido a que la albúmina normalmente se une al ácido araquidónico limitando su conversión a tromboxano A_2 por las plaquetas, la hipoalbuminemia puede aumentar el metabolismo del ácido araquidónico por estas, dando como resultado la hiperactividad plaquetaria. Por otro lado, se ha reportado que la proteína tromboglobulina- β que es liberada por la agregación de plaquetas se eleva en el suero de pacientes con SN [A8].

La mayoría de los pacientes presentan un estado de hipercoagulación en el SN, sin embargo, aún no puede establecerse el papel del estado hipercoagulable en el desarrollo de la trombosis [C6,L26], considerando el tromboembolismo como la más seria complicación en el SN. El sitio más frecuente de trombosis es la vena renal de estos pacientes, pero puede presentarse trombosis a nivel pulmonar provocándose la embolia pulmonar [C6] (Tabla 4).

Tabla 4
Factores Hemostáticos en el Síndrome Nefrótico.

Factor de Coagulación	Anormalidad	Promueve coagulación	Promueve sangrado
Zimógenos	Reducidos:II,IX,XI,XII Aumentados:VII, X	+	+
Cofactores	Aumentados:V,VIII ^a	+	
Fibrinógeno	Aumentado ^a	+	
Inhibidores de la coagulación	Reducido:antitrombina III ^a . Aumentado:macroglobulina alfa-2	+	+
Sistema fibrinolítico	Reducidos:plasminógeno Aumentados:antiplasminas: macroglobulinas alfa-2 antiplasmina alfa-2 Antiplasminas reducidas: antitripsina alfa-1 y alfa-2	+	+
Plaquetas	Trombocitosis Aumento en adhesividad Aumento en agregación ^a	+	

^aDefectos más comunes.

Tomado de la referencia [B29].

En la nefrosis experimental se ha encontrado un aumento en la concentración urinaria y disminución en sangre de antitrombina III [G18]; aumento en la concentración sanguínea y urinaria de protrombina [G18]; aumento de macroglobulina alfa-2 en suero [H36] y aumento en la concentración en sangre de fibrinógeno sin cambios en su excreción urinaria [G18,M15]. Otro estudio reporta aumento en los niveles plasmáticos de los siguientes factores de la coagulación: I,II,V,VII,VIII,X,XI; bajo nivel plasmático del inhibidor de la coagulación antitrombina III (ATIII); y niveles plasmáticos normales del componente del sistema fibrinolítico antiplasmina- α 2 (α 2-APL) y de los factores de la coagulación IX y XII [C49]; mientras que los factores II,VII,VIII,IX,X,XI,XII y ATIII aparecen en la orina de ratas nefróticas por ANP [C49]. La deficiencia de ATIII probablemente es consecuencia de su pérdida urinaria, sin embargo, la actividad plasmática de los factores II,VII,VIII,X y XI se incrementa, y la de los factores IX y XII no cambia, a pesar de sus pérdidas urinarias [C49] (Tabla 4.1). Además, también se ha reportado que el ARNm hibridizable del factor I, está aumentado en ratas nefróticas por ANP [17].

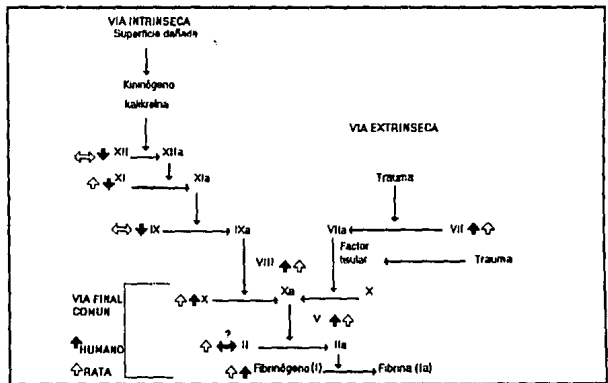
Tabla 4.1
Factores Hemostáticos en el Síndrome Nefrótico Experimental.

Proteína	PM (KDa)	% Orina	% Plasma
Factor I	340	ND	↑ 185
Cofactor V	330	ND	↑ 453
Cofactor VIII	330	↑ 7	↑ 378
Factor XI	169	↑ 69	↑ 210
Factor XII	80	↑ 56	= 94
Factor II	72	↑ 8	↑ 132
Factor X	72	↑ 63	↑ 242
Alfa-2 APL	70	ND	= 97
AT-III	65	↑ 88	↓ 11
Factor IX	56	↑ 30	= 119
Factor VII	56	↑ 148	↑ 366

Resumen de los datos de orina y plasma de ratas nefróticas por ANP (día 10).
 ND= No detectado; Alfa-2 APL= antiplasmina alfa-2; AT-III= antitrombina III; ↑=aumenta; ↓=disminuye; = normal.
 Tomado de la referencia [C49].

Los datos anteriores muestran que en el SN experimental se presentan profundas alteraciones en el sistema de la coagulación, algunas de las cuales difieren de aquellas descritas en pacientes con SN (Figura 24).

Figura 24. Mecanismo de coagulación. Esquema comparativo de los factores de la coagulación entre humanos y rata. ↑=aumentan; ↓=disminuyen; ↔=sin cambio, [C49].



V. Alteraciones en el metabolismo de hormonas.

Las alteraciones en los niveles sanguíneos de hormonas en el SN se deben en parte a la pérdida urinaria de proteínas que unen a estas hormonas. Se ha reportado reducción de los niveles en suero de la globulina que une tiroxina (TBG) [A10], de la que une corticosteroides (CBG) [M49], 17-hidrocorticosteroides [M49], triyodotironina [A10]. En orina se presentan altos niveles de TBG [M49], de CBG [M49] y de triyodotironina [A10]. La pérdida urinaria de TBG altera los niveles sanguíneos de hormonas tiroideas [B30].

VI. Alteraciones en el metabolismo de Ca^{+2} y vitamina D.

En SN se presenta hipocalcemia, hipocalciuria y una absorción intestinal de calcio defectuosa causadas por una disminución en los niveles sanguíneos de Vit D₃ y sus metabolitos [G27]. La radiación ultravioleta altera la conversión de una substancia natural en la piel (7-dihidrocolesterol), a vitamina D₃. Esta, a su vez, se modifica por reacciones de hidroxilación en hígado y riñones antes de efectuar su función esencial de aumentar la absorción de calcio desde el intestino delgado [J1]. La substancia activa (1,25-dihidroxicolecalciferol, llamada también 1,25-dihidroxivitamina D₃), es en realidad una hormona secretada por los riñones en respuesta a las necesidades del calcio del organismo. La hidroxivitamina D₃ entra en la célula intestinal, y después se enlaza a un receptor de proteínas, que puede penetrar entonces en el núcleo y activar la transcripción génica, dando como resultado la síntesis de una proteína enlazadora de calcio que facilita el transporte del mismo [J1]. La vit D₃ y sus metabolitos circulantes en plasma se unen a una proteína globulina de 65,000 Da (globulina unidora de vit D₃, DBP) por lo que la excreción urinaria de este complejo globulina-vitamina (DBP/vitamina D₃) podría contribuir a la deficiencia de la vit D₃ y a las alteraciones que provoca, lo cual ha sido comprobado, ya que la ingestión de colecalciferol (Vit D₃) marcado en pacientes nefróticos provoca rápidamente la excreción del metabolito 25-hidroxilado unido a la proteína acarreadora (25-OH-D)_[B13]. En otro estudio se observó que los niveles en suero de DBP se reducen y la proteína es identificada en orina, la cual no puede identificarse en la orina de una persona normal [S12]. Por otro lado, en la nefrosis experimental se ha reportado una disminución en sangre y un aumento en orina de DBP [C23,K41] (Tabla 3).

Se ha encontrado una correlación inversa entre los niveles sanguíneos de 25-OHD y la magnitud de albuminuria, y una correlación directa entre los niveles sanguíneos de 25-OHD y la concentración de albúmina en suero [G28]. La reducción en la proteinuria está asociada con un aumento en el nivel sanguíneo de 25-OHD.

Todos los estudios están de acuerdo en que los niveles en plasma de 25-hidroxicolecalciferol (25(OH)D); 25,26-dihidroxicolecalciferol (25,26(OH)₂D); y 24,25-dihidroxicolecalciferol (24,25(OH)₂D) se reducen en el SN, en cambio los datos relacionados con (1,25(OH)₂D) son controvertidos; algunos autores han encontrado que los niveles en sangre y suero son bajos [G27] y otros que son normales [F28]; estas diferencias pueden deberse a que los ensayos para 1,25(OH)₂D miden tanto la 1,25(OH)₂D libre como la unida a la proteína (solo la cantidad libre es fisiológicamente importante). En otro estudio con pacientes nefróticos se midió el 1,25(OH)₂D libre encontrándose disminuido [A23].

En pacientes con SN se ha reportado un bloqueo de la respuesta calcémica a la hormona paratiroidea (PTH) [B30], es decir se bloquea la resorción del calcio de los huesos hacia la sangre, observándose elevados niveles de PTH en pacientes con SN, lo que provoca hiperparatiroidismo secundario [G27].

Por otro lado, se propone que la hipocalciuria posiblemente se deba a un aumento en la reabsorción tubular renal del calcio filtrado [L24].

VII. Alteraciones enzimáticas.

En la nefrosis experimental se presentan alteraciones de los perfiles de actividad enzimática en suero (Tabla 5). Hay enzimas que aumentan su actividad en suero como aldolasa (ALS) y colinesterasa (CHS) [P13]; otras disminuyen su actividad como lactato deshidrogenasa (LDH), α -hidroxibutirato deshidrogenasa (HBD), creatina cinasa (CK), fosfatasa alcalina (ALP) [P13] y alanina aminotransferasa (ALT) [P13]; otras muestran un comportamiento bifásico es decir, primero aumentan y luego disminuyen como isocitrato deshidrogenasa (ICD) [P13], aspartato aminotransferasa (AST) [P13], leucinaminopeptidasa (LAP) [P13]; y otras como la γ -glutamilttransferasa (GGT) no cambian [P13] (Tabla 5). La actividad de algunas enzimas intracelulares aumenta en la circulación cuando las células se han dañado y cuando la membrana celular se debilita [26]. Las enzimas ALS,CK, LDH, HBD, ALT, ALP, AST, ICD, LAP, GGT no son específicas de un tejido, por lo que pueden aumentarse en respuesta al daño de varios tejidos [26]. Probablemente las alteraciones de la actividad enzimática en suero de algunas enzimas puedan deberse al aumento de la síntesis y/o disminución en su degradación, a su excreción urinaria, al daño en membrana celular, o a una combinación de estos factores, posiblemente secundarios al daño por ANP. El mecanismo por el cual la actividad en suero de estas enzimas está alterada en las ratas nefróticas por ANP se desconoce, al parecer el mecanismo regulatorio para la síntesis de proteínas en los modelos experimentales parece ser diferente para cada proteína. Así, en pacientes nefróticos, el aumento de la actividad en suero de CHS probablemente se deba al aumento de la síntesis de proteínas por el hígado [K22].

Estudios enzimáticos en glomérulos de ratas normales y nefróticas por ANP, muestran una disminución en la actividad de la ectoenzima 5-nucleotidasa de membrana plasmática dos días después de la administración de ANP [B40], y un aumento en los primeros seis días del tratamiento por ANP de la catalasa en peroxisomas y de la N-acetil-Beta-glucosaminidasa de lisosomas [B40], lo que sugiere que la membrana plasmática se altera en un estado temprano por el ANP.

Estudios bioquímicos indican que existe un aumento en la actividad de la catalasa de peroxisomas en la nefrosis [B40], y un aumento de la actividad enzimática lisosomal 2 a 4 días después del tratamiento con ANP cuando aún no se ha observado proteinuria [B40]. Esto podría implicar que la proteinuria se presenta cuando el sistema lisosomal protector está saturado, porque ha respondido al máximo a la posible formación de radicales libres del oxígeno, la cual se considera el mecanismo de acción del ANP.

VIII. Alteración de diversas proteínas del SRAA.

En la nefrosis experimental se ha reportado aumento en la concentración en orina y disminución en sangre de angiotensinógeno [P8,P9,P10,P11,P12]; y aumento en la concentración en orina y sangre de renina [P10,P8,P9,P11,P12] y ECA [P10,P11,A18] (Tabla 3). La síntesis de algunas proteínas como renina y ECA aumentan suficientemente para compensar las pérdidas urinarias y aumentar sus niveles circulantes [P10,P8,P9,P11,A18], mientras que la síntesis de angiotensinógeno (cuyo nivel circulante disminuye) aumenta, pero no lo suficiente para balancear las pérdidas urinarias y/o el aumento en su degradación [P8].

Tabla 5
Pesos Moleculares y Actividades en Suero de 11 Enzimas en la Nefrosis Experimental.

Enzima	Peso Molecular (KDa) y fuente	Ref.	Actividad en suero en la nefrosis con ANP
ALS	160 músculo 156 hígado	S20	Alta
CHS	348 suero	S20	Alta
CK	82 cerebro,músculo	S20	Baja
LDH	140 corazón,hígado	S20	Baja
HBD	140 corazón	S20	Baja
ALT	101 hígado	F14	Baja
ALP	140 intestino 120 placenta,hueso	S20	Baja
AST	90 hígado,corazón	S20	Alta/baja
ICD	330 corazón	P15	Alta/baja
LAP	230-330 cristalino,hi- gado,riñón	S20,M48	Alta/baja
GGT	90 suero	T16	Normal

Notas: ALS:albolasa; CHS:colinesterasa; CK:creatina cinasa; LDH:lactato deshidrogenasa; HBD:α-hidroxi-butirato deshidrogenasa; ALT: alanina aminotransferasa; ALP:fosfatasa alcalina; AST:aspartato aminotransferasa; ICD:isocitrato deshidrogenasa; LAP:leucina aminopeptidasa; GGT:glutamil gamma transferasa.

Tomado de la referencia [P13].

Formación de Edema y Retención de Sodio

Una de las manifestaciones más características del SN es la formación de edema y retención de sodio. Cuando el líquido intravascular sale al espacio extracelular y se acumula, se forma el edema. Las fuerzas hidrostáticas que intervienen en la formación del edema son: la presión hidrostática (PH) que es la fuerza dominante en la parte terminal arteriolar del capilar y se genera por la presión sanguínea arterial. La presión es menor en los capilares (40-45 mm de Hg) que en el sistema arterial, pero mayor que la presión tisular (2-5 mm de Hg). La PH se opone a la presión oncótica (PO) del plasma (25-30 mm de Hg) y es generada por los solutos coloides. La fuerza neta resultante (10-15 mm de Hg) da un ultrafiltrado de la sangre de los capilares al espacio intersticial.

En el capilar terminal venoso la PH se disipa y aumenta la PO, por lo que hay una fuerza neta para que regrese el fluido intersticial al capilar. La cantidad de líquido que sale del capilar arteriolar es mayor que la del líquido intersticial que se resorbe en el capilar venoso, por lo que la diferencia que queda en el espacio intersticial es resorbido por el sistema linfático [513]. Cuando por algún estímulo (hemorragia, tono vascular anormal [174], niveles alterados de catecolaminas [07], metabolismo alterado de prostaglandinas) el volumen sanguíneo disminuye y la PO intersticial aumenta, el organismo pone a funcionar el mecanismo regulatorio sistema renina-angiotensina-aldosterona (SRAA), así como otras respuestas fisiológicas que incluyen: liberación de la hormona antidiurética (ADH) y disminución en el flujo sanguíneo renal y en la VFG [B47,R24], para aumentar la resorción de agua y sodio. Una vez que el volumen plasmático se restablece, los sistemas de emergencia dejan de actuar, la circulación regresa a la normalidad y la excreción de sodio es igual a la ingerida.

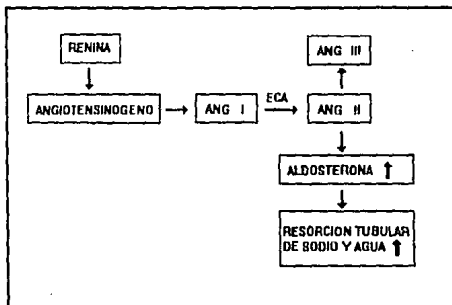
En la mayoría de las especies de mamíferos la excreción de sodio se controla de acuerdo a las necesidades del organismo, variando la resorción renal tubular. Si el sistema trabaja apropiadamente, la VFG se mantiene constante. Los factores importantes para controlar la excreción de sodio son las características fisicoquímicas de la sangre que irriga a los riñones (presión, volumen de flujo, viscosidad, contenido de oxígeno y presión osmótica), y el grupo de mensajeros químicos intrarrenales y extrarrenales, humorales y neurales como aldosterona, hormona natriurética, norepinefrina, prostaglandinas, etc.

El concepto tradicional de la formación del edema y la retención de sodio propone que la albúmina es la proteína plasmática principal encargada de mantener la PO, por lo que es de suponer que la hipoalbuminemia resulta en la reducción de la PO de la sangre, favoreciéndose el movimiento del agua del espacio intravascular al espacio intersticial, produciendo hipovolemia

y edema. La hipovolemia activa los sensores de volumen y presión que, mediante una serie de mecanismos intrarrenales, extrarrenales, neurohumorales y hemodinámicos, envían señales al riñón para retener agua y sal [B28], así la excreción de sodio y agua por el riñón es menor a la ingerida, para recuperar el fluido extracelular o el volumen plasmático perdido y de esta manera reestablecer el volumen sanguíneo.

El SRAA regula la homeostasis del agua y Na^+ en el organismo [V11]. Está compuesto por la renina que es una enzima cuyo sustrato es el decapeptido angiotensinógeno, el cual es cortado a un octapéptido para dar origen a la Ang I, que, mediante la acción de la ECA, origina la Ang II. Esta por un lado puede dar origen a Ang III, y por otro promueve la liberación de aldosterona, hormona esteroidea suprarrenal que aumenta la resorción tubular de sodio y agua, al aumentar la síntesis de la proteína transportadora de sodio a nivel tubular. Además, la Ang II juega un papel en el mecanismo regulatorio del sistema SRAA ya que inhibe la secreción de renina [P16] y estimula la secreción de angiotensinógeno [K51].

Figura 25. Sistema Renina Angiotensina Aldosterona; ANG I= angiotensina I, ANG II= angiotensina II, ANG III= angiotensina III, ECA= enzima convertidora de angiotensina, ↑= aumento.



A continuación se enlistan las evidencias en contra del concepto tradicional de la formación del edema y la retención de sodio en pacientes con SN:

- No se ha observado edema en humanos que presentan hipoalbuminemia [B25].
- Se ha observado que el 38% de los pacientes con SN tienen el volumen sanguíneo reducido en un 10% o más del valor normal, el 48% de los pacientes presentan valores normales, y el 14% de los pacientes presentan valores altos [D26].
- Los estudios de pacientes con enfermedad de cambios mínimos (ECM) en recaída y remisión no muestran aumentos consistentes en el volumen sanguíneo y en la mayoría no cambian los valores [D26].
- Los pacientes con SN se han estudiado en diferentes fases de la enfermedad: el volumen sanguíneo disminuye tempranamente en la recaída en ECM y regresa a nivel normal conforme se desarrolla anasarca (infiltración de serosidad en los tejidos celulares del cuerpo) [W6].

Las explicaciones que se proponen para algunos de los puntos anteriores son:

- No todos los pacientes tienen ECM, ya que en el SN por glomerulonefritis presentan un volumen sanguíneo normal o alto [M27].
- Los pacientes con tratamiento durante el estudio, por ejemplo la terapia natriúrica (eliminación de sodio por orina), disminuyen el volumen sanguíneo y el volumen del fluido intersticial [G6].

Otras evidencias:

- Se ha reportado que la actividad de renina plasmática y la concentración de aldosterona en plasma o su velocidad de excreción son altas en menos del 50% de los casos [D26,B64,S31]; según el concepto tradicional de la formación del edema y la retención de sodio en pacientes con SN, se esperaría que estas estuvieran muy altas, ya que la concentración elevada de aldosterona en plasma, aumenta la resorción tubular de sodio y agua, es decir, aumenta la retención de sodio por el riñón y disminuye su excreción, además no se observa correlación entre los cambios de la actividad de renina plasmática o aldosterona y el volumen sanguíneo [D26,B64].
- Se ha observado que la actividad de renina en plasma aumenta después de la diuresis en pacientes con ECM [D26], sin embargo, cuando se induce diuresis y natriuresis por la inmersión de los pacientes en agua, disminuye la actividad de renina plasmática [K59], tal vez debido a la expansión del volumen plasmático.
- Se ha observado que el captopril (inhibidor de la enzima convertidora de angiotensina) o la saralasin (antagonista del receptor de Ang II) no presentan efecto en la retención y excreción de sodio en el SN en el humano [B65,B66].
- Se ha reportado que cuando se suministra una dieta pobre en albúmina y sodio a pacientes con SN y edema, durante 3 días consecutivos, se normaliza el volumen plasmático, es decir, se incrementa a un nivel normal, sin embargo, la excreción de sodio permanece abajo del consumo diario y los pacientes aumentan de peso [B67].
- Se ha propuesto un defecto primario intrarrenal en la excreción de sodio [B64] ya que pacientes con ECM en tratamiento con esteroides para inducir la remisión, (en donde la excreción de sodio en orina es aproximadamente la ingerida), no presentan cambios en la concentración de albumina plasmática (baja) o en el volumen sanguíneo (normal).
- Se ha reportado que los factores intrarrenales responsables de la retención de sodio pueden relacionarse con la reducción de la velocidad de filtración glomerular o con el aumento de la resorción tubular [S31,V4,P17].
- Se ha observado que a los niños con ECM les disminuye la VFG y la fracción de filtración [B47,R24]. La disminución de la VFG puede explicar, por una parte, la retención de sodio, sin embargo, otros autores [12] han sugerido que la retención de sodio es secundaria al aumento de la resorción tubular de sodio y no a una disminución de la VFG. De acuerdo con lo anterior la saralasin normaliza la VFG y no presenta efecto en la retención de sodio [12].
- El concepto tradicional no puede explicar todos los casos de retención de sodio en pacientes nefróticos. Es posible que operen diferentes mecanismos en diferentes pacientes, o que varios mecanismos influyan en cada paciente a diferente tiempo, dependiendo de factores como la lesión glomerular específica, el estado de evolución del proceso retentivo de sodio, la sal ingerida en la dieta, postura del paciente, presencia y severidad de enfermedades del corazón e hígado asociadas, y otros factores adicionales.

Evidencias en contra del concepto tradicional de la formación del edema y la retención de sodio en el modelo experimental de SN:

- No se ha observado edema en animales experimentales que presentan hipoalbuminemia [V2].
- Se ha observado que la excreción de sodio disminuye dramáticamente antes de que sean evidentes el edema, la ascitis, la proteinuria y la hipoproteinemia, sugiriendo que la retención de sodio no se relaciona con la proteinuria e hipoproteinemia, lo que se apoya con el hecho de que cuando la retención de sodio desaparece, la proteinuria e hipoproteinemia persisten [P10].

- Se ha reportado que los riñones perfundidos unilateralmente con ANP presentan retención de sodio y proteinuria en presencia de concentración normal de proteínas plasmáticas [12,C24]. El mecanismo responsable para la retención de sodio en ratas con SN por ANP parece no depender de factores sistémicos como proteinuria, hipoproteinemia, hipovolemia, y actividad de SRAA, y puede deberse a factores intrarrenales [12,C24].

- El efecto del captopril es controvertido en ratas con SN inducido por ANP, ya que se observa que el captopril no presenta efecto en la proteinuria ni en la retención de sodio y agua, pero sí en el SRAA [P9], lo que sugiere que la retención de sodio en el SN no se relaciona con el SRAA ni con factores sistémicos. Es posible que los cambios del SRAA se deban a cambios en el volumen sanguíneo [P9,B65,B66].

- El SRAA está alterado en ratas con SN producido por ANP [P10]. Se presenta un aumento en la concentración de aldosterona plasmática [P10] y de la actividad de la ECA en suero [P10], presentándose posteriormente un aumento en la concentración de renina plasmática. Esto sugiere que el aumento de la actividad de la ECA en suero y de la concentración de aldosterona plasmática no son secundarios a la secreción de renina [P10].

- En otros estudios se ha reportado que el edema en ratas con SN no se modifica con la administración de renina a lo largo del estudio [C49].

En base a las evidencias que se tienen en contra del concepto tradicional de la formación del edema y la retención de sodio, se propone una nueva hipótesis que explica: la retención de sodio es primaria y es consecuencia de un mecanismo intrarrenal [D26,D25,B64] (Figura 26).

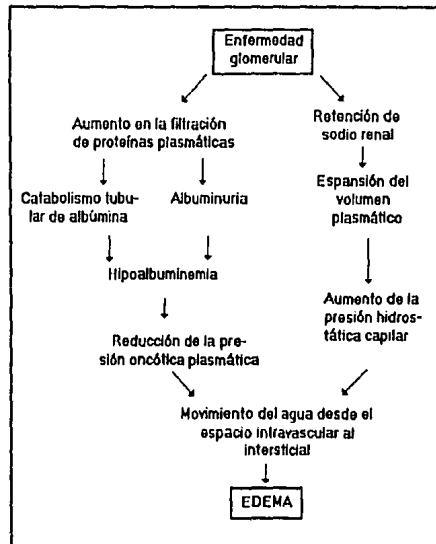


Figura 26.- Hipótesis clásica y propuesta de la formación del edema en el SN [B29].

Hipótesis Propuesta.

La retención renal de sodio es el factor primario iniciador de la expansión del volumen sanguíneo, lo que eleva la presión sanguínea y suprime la actividad de renina plasmática y niveles de aldosterona. El edema se desarrolla por el desbordamiento debido a la expansión del volumen plasmático, que provoca la salida del agua al intersticio bajo la influencia de las fuerzas hidrostáticas locales alteradas. Al parecer, la retención de sodio es un fenómeno primario debido a influencias intrarrenales; por lo que se propone la presencia de un factor o factores que promueven la retención de sodio por riñones proteinúricos.

Metabolismo de Aminoácidos

Los aminoácidos circulantes que se filtran en el riñón son reabsorbidos activamente a nivel del túbulo proximal, de ahí pueden regresar a la circulación para ser reusados o pueden ser catabolizados dentro de los túbulos renales y perderse de la reserva corporal de proteínas.

Como consecuencia del aumento en la reabsorción tubular de proteínas filtradas, la función de las células tubulares epiteliales se altera presentándose la disfunción tubular. Las manifestaciones son: aminoaciduria, glicosuria, pérdida de potasio y fosfato, y acidosis hiperclorémica [B30,W24].

En pacientes adultos nefróticos, se ha observado aumento en la excreción urinaria de aminoácidos esenciales y no esenciales, existiendo una tendencia general a la disminución en la concentración de varios aminoácidos en la sangre de sujetos nefróticos [S36]. La mayoría de los autores concluyen que los niveles de aminoácidos en la sangre nunca aumentan pero si disminuyen, particularmente en la nefrosis crónica [F12,P21,S36]. Se ha observado que el aminoácido triptofano es el que más disminuye en el suero de pacientes nefróticos [S36]. Sin embargo, contrario a lo anterior existe un grupo de investigadores que no ha encontrado aumento significativo en la excreción urinaria de aminoácidos libres asociado a la nefrosis [S41].

Es posible que el metabolismo de aminoácidos y la síntesis de proteínas plasmáticas se favorezcan en el estado nefrótico [D28] en un intento por compensar las pérdidas anormales de proteínas.

En un estudio, no se observó disfunción tubular en el SN, ya que después de elevar la concentración de aminoácidos en la sangre al administrar intravenosamente una mezcla de aminoácidos, el porcentaje de aminoácidos filtrados que se excretan aumenta en la misma proporción en sujetos normales y nefróticos [S36].

Se ha reportado hiperaminoaciduria en pacientes nefróticos bajo las siguientes condiciones:

- 1) Durante el tratamiento con dieta alta en proteína [S47].
- 2) Durante la administración por vía oral o intravenosa de hidrolizados de proteína [C8].
- 3) Durante el tratamiento con ACTH [S15].

Se ha reportado el caso de veinticinco niños con nefrosis lipídica presentando hiperaminoaciduria, la cual fué dividida en dos tipos de acuerdo al tipo o patrón de aminoaciduria que se presentaba en la orina [W24]. El primer tipo, denominado patrón-H, se caracteriza por la presencia de grandes cantidades en orina de compuestos que contienen alfa-amino nitrógeno como etanolamina, ácido beta-amino-isobutírico y taurina, y poca cantidad de compuestos alfa-aminoácidos como tirosina, leucina y valina. El patrón H de hiperaminoaciduria ha sido interpretado por algunos como la expresión de una alteración funcional hepática en la nefrosis lipídica debida a su frecuencia [W24], mientras que para otros [H28] es difícil conferir cualquier

valor al patrón-H ya que solo se presenta en pacientes que han desarrollado hepatitis infecciosa en donde la cura de la enfermedad hepática se asocia con la remisión espontánea de la nefrosis lipóidica [H28]. El aumento en la excreción de aminoácidos en pacientes con aminoaciduria de tipo H no parece deberse a un aumento en los niveles de aminoácidos en la sangre, ya que estos se encuentran dentro de los límites normales [W24], sin embargo, otros han encontrado una pequeña reducción en los niveles de alfa-aminoácidos del plasma, la cual se acentúa durante la "crisis nefrótica" en niños con SN [F12] y además, existe una tendencia general hacia los bajos niveles en plasma de alfa-aminoácidos en adultos [S36] y niños [P21]. Lo que sugiere que el tipo H de aminoaciduria se debe a dos causas: una alteración en el metabolismo de aminoácidos que provoca la aparición en orina de etanolamina, ácido-beta-amino-isobutírico y taurina, asociado con un defecto menor en la reabsorción tubular responsable de la aparición de leucina, valina y probablemente tirosina, pero en menor magnitud a la que se presenta en otro tipo de aminoaciduria (tipo R) [W24]. La amplia variación entre las cantidades relativas de estos dos grupos de compuestos amino, presentes en la orina, apoyan este mecanismo dual [W24]. El pronóstico para este patrón H de aminoaciduria es mejor que para el R. El segundo tipo, denominado patrón R, se caracteriza por la presencia de un grupo de aminoácidos que es considerado abundante en la sangre entre los que están prolina, leucina, isoleucina, valina y alanina [W24]. La prognosis de este tipo de aminoaciduria es menos favorable. Esta excesiva excreción de aminoácidos se atribuye a la reabsorción insuficiente del filtrado glomerular a nivel del túbulo proximal [W24]. El patrón R se ha observado en varias condiciones en donde los túbulos renales no reabsorben los aminoácidos eficientemente, lo que encuentra apoyo con la presencia de glicosuria, ya que esta en el SN se debe a un defecto en la reabsorción tubular [W24], por lo que para este patrón R se sugiere fuertemente un defecto en la reabsorción tubular.

Otros autores han reportado hiperaminoaciduria de tres tipos [H28]:

- a) Hiperaminoaciduria conteniendo cantidades de aminoácidos neutros con largas cadenas de carbonos como ácido alfa-aminobutírico, valina, leucina e isoleucina, y de aminoácidos aromáticos como tirosina, fenilalanina y prolina [H28]. Posiblemente, este tipo correspondiera al patrón R ya descrito [W24], y la hipótesis de que se debe a una reabsorción tubular insuficiente se apoya experimentalmente en que se presentan características de insuficiencia tubular como lo son glicosuria y disminución de la reabsorción de fosfato [H28].
- b) En el segundo tipo de hiperaminoaciduria predominan cistina, metionina, taurina, ácido aspártico, asparagina y ácido beta-amino-isobutírico [H28]. Se ha considerado este tipo como reminiscente del patrón H descrito anteriormente [W24].
- c) El tercer tipo de hiperaminoaciduria no es identificable como el patrón-R o patrón-H descritos previamente [W24]. Este grupo menos homogéneo, está constituido por los aminoácidos individuales que se presentan en los dos tipos anteriores de patrones: ácido alfa-aminobutírico, valina, leucina, isoleucina, tirosina, fenilalanina, prolina, cistina, metionina, taurina, ácido aspártico, asparagina y ácido beta-aminoisobutírico encontrados con relativa frecuencia, pero nunca en una asociación característica [H28]. Esta hiperaminoaciduria es muy inconsistente cuantitativamente [H28], y se presenta asociada a la terapia con ACTH y glucocorticoides en la nefrosis lipóidica. El tratamiento puede influenciar la excreción urinaria de aminoácidos en niños con nefrosis lipóidica ya que en algunos pacientes el tratamiento con ACTH desarrolla una definitiva hiperaminoaciduria mientras que en otros no se observa, por lo que la interpretación de este tercer tipo de hiperaminoaciduria y la acción general de ACTH y glucocorticoides en la concentración

de aminoácidos en sangre y orina es complicada.

En cuanto a la nefrosis lipóidica, el efecto de ACTH en los niveles de aminoácidos se ha descrito solo un caso en donde la hiperaminoaciduria desapareció [515]. No se conoce el mecanismo de acción de ACTH o glucocorticoides en la hiperaminoaciduria, ya que después de la administración de estas hormonas hay un moderado aumento en el nivel sanguíneo de aminoácidos.

En resumen, la aminoaciduria puede deberse a una alteración en el metabolismo de aminoácidos que provoca su aparición en la orina asociada con un defecto en la reabsorción tubular que consiste en la reabsorción insuficiente del filtrado glomerular a nivel de la nefrona proximal. En terminos generales se han reportado tres tipos de aminoaciduria, de acuerdo al tipo de aminoácidos encontrados en la orina, su asociación a terapias, y pronóstico de la aminoaciduria.

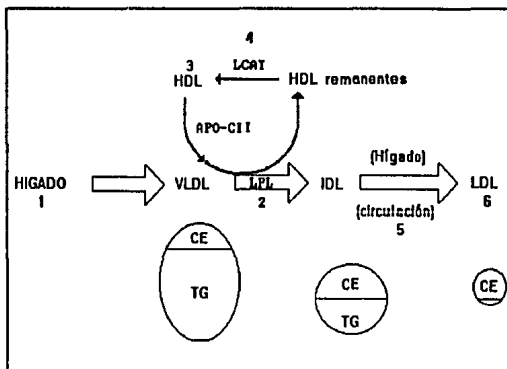
**ESTA TESIS NO DEBE
SALIR DE LA BIBLIOTECA**

Metabolismo de lípidos

Introducción.

Las lipoproteínas son transportadores eficientes de triglicéridos y colesterol de origen endógeno y exógeno. De acuerdo a los conceptos actuales, los triglicéridos recién sintetizados se originan en el hígado como lipoproteínas de muy baja densidad (VLDL) (sitio 1, Figura 27) y son hidrolizados por un sistema enzimático de lipasas de lipoproteínas conocido como lipoprotein lipasa (LPL) situadas en tejidos extrahepáticos como tejido adiposo, músculo y endotelio vascular (sitio 2, Figura 27). Bajo la actividad de LPL, los triglicéridos son removidos progresivamente de VLDL dejando pequeños remanentes de lipoproteínas de densidad intermedia (IDL) y remanentes de lipoproteínas de alta densidad (HDL). Para la activación de LPL se necesita un péptido-apolipoproteína CII (apo-CII), el cual es transportado por las HDL y se transfiere a las VLDL durante el proceso catabólico (sitio 3). La enzima lecitín-colesterol acil transferasa (LCAT, sitio 4) cataliza la conversión de los remanentes de HDL a HDL.

Figura 27. Vía metabólica normal de lipoproteínas. LCAT= lecitín colesterol acil transferasa; LPL= lipoprotein lipasa; CE= ester de colesterol; TG= triglicéridos, HDL = lipoproteína de alta densidad; VLDL = lipoproteína de muy baja densidad; IDL = lipoproteína de densidad intermedia; LDL = lipoproteína de bajd densidad [B30].



Las lipoproteínas de densidad intermedia (IDL) son convertidas a LDL en el hígado y probablemente en circulación (sitio 5), y son tomadas por tejido periférico (sitio 6) y por el hígado. Las HDL producidas por el hígado durante la reacción de LPL, y que proporcionan apo-CII a las VLDL, tienen la importante función de remover colesterol de la circulación y llevarlo al hígado para su excreción.

La regulación del nivel de LDL en plasma es complejo. Se ha identificado el receptor

específico y de alta afinidad de LDL en las membranas celulares, lo que controla la liberación y captura de LDL por las células [G29]. En individuos normales, esta vía mediada por el receptor, lleva a cabo el catabolismo de LDL, mientras que en la hipercolesterolemia familiar, la actividad del receptor está ausente o deficiente y se asocia con un aumento en los niveles plasmáticos de LDL-colesterol. Cuando se presenta una disminución de la remoción por el receptor de LDL, grandes cantidades de lipoproteínas son canalizadas hacia una vía alternativa pobremente definida independiente del receptor que puede involucrar el sistema fagocítico [G29].

Los defectos en la vía metabólica normal de las lipoproteínas a cualquier nivel, resulta en la acumulación de lipoproteínas circulantes en el SN.

Niveles lipídicos en el SN.

Los primeros reportes de niveles elevados de colesterol en el suero de pacientes con SN fueron hechos en 1917 por Epstein [E8], y el del aumento en los niveles de fosfolípidos y triglicéridos en plasma fue hecho en 1925 por Daniels [D4].

En el SN se observa un aumento en los lípidos y lipoproteínas en circulación [B30]. Los niveles sanguíneos de colesterol total, colesterol libre y ésteres de colesterol [T6], fosfolípidos [B17] y la proporción de colesterol total-fosfolípido, aumentan progresivamente.

Los niveles de triglicéridos son variables de tiempo en tiempo en un individuo y de individuo a individuo, y en muchos pacientes no aumentan a excepción de que el estado nefrótico sea muy severo [B17,33].

Los niveles plasmáticos de ácidos grasos libres están dentro de los límites normales, sin embargo, una fracción menor a la normal se une a la albúmina plasmática [B17].

Estos cambios están asociados con el incremento de las proteínas transportadoras de lípidos en la sangre: las lipoproteínas. En los pacientes nefróticos se ha encontrado un aumento en todas las clases de lipoproteínas [O25]. Estas anomalías desaparecen cuando el síndrome remite [B30]. Las lipoproteínas VLDL, IDL y LDL aumentan tempranamente en el SN [B17,T6,J3,B16,A17,M47]. Los datos acerca de HDL en humanos y animales con SN son conflictivos, algunos muestran en plasma o suero bajos niveles [B16,A17,C37], otros muestran niveles normales o altos [S35,C22,Z5]. Los pacientes nefróticos con ECM muestran bajos niveles en orina y altos niveles en sangre de HDL, mientras que en pacientes con SN por otras causas se presentan altos niveles en orina y bajos niveles en sangre de HDL [Z5].

Los lípidos y lipoproteínas plasmáticas pueden aumentarse debido a un incremento en la velocidad de síntesis, disminución en la velocidad de remoción, aumento en la movilización de almacenes de reserva de grasas, o una combinación de estos factores.

Defectos a cualquier nivel de esta vía metabólica (sitios 1 al 6, Figura 27) resultan en la acumulación de lipoproteínas en circulación. En el SN, se han descrito estos defectos, algunos están mejor caracterizados y son más importantes que otros.

Existen puntos importantes a considerar en el estudio de la hiperlipidemia en el SN humano y experimental:

- 1) Las concentraciones de lipoproteínas de diferentes sueros pueden diferir aún cuando los niveles de colesterol en suero sean los mismos. Esto es la proporción de colesterol en las fracciones puede ser diferente.
- 2) En cualquier paciente nefrótico la concentración de lípidos individuales y el patrón de lipoproteínas dependen de la severidad del SN, y de otros factores como la edad, dieta del

paciente, la presencia de ciertas drogas (particularmente esteroides), el estado nutricional del paciente, cualquier enfermedad adicional y el grado de deterioro renal [B17]. Los resultados obtenidos en estudios en el modelo experimental en ratas con SN inducido por ANP, deben interpretarse con precaución ya que el ANP presenta una influencia directa en la actividad de las enzimas del hígado [D15]. Además, hay que tener cuidado al extrapolar los estudios en ratas a humanos ya que el metabolismo de las lipoproteínas presenta diferencias en cuanto a la especie [M11].

Composición de las lipoproteínas en el SN.

También existen anomalías en la composición de la molécula lipoproteica en el SN. Se presenta una mayor cantidad a la usual de colesterol y triglicéridos en las VLDL, IDL y LDL, y se han descrito alteraciones de tipo específico y cuantitativas de las diferentes mitades de apoproteína de la molécula lipoproteica [B30,M47] que probablemente constituyen las bases para la hiperlipidemia [T2,C3,M23,K33]. Un estudio en pacientes con SN mostró aumento en el contenido de triglicéridos en las LDL, mientras que el contenido de proteínas, fosfolípidos y colesterol esterificado permaneció igual al de LDL de sujetos normales [W8]. Estudios estructurales de las lipoproteínas en SN muestran alteraciones en la cantidad y tipo de apoproteínas [M10,M11,G11].

La composición de lípidos y apoproteínas de las lipoproteínas de ratas nefróticas es diferente al compararla con ratas normales [M11], es posible que los defectos catabólicos de las VLDL-TG sean la expresión de estos cambios ya que se ha observado que las VLDL de ratas nefróticas contienen menos triglicéridos por partícula que las VLDL de ratas normales [C3,M11]. Se ha observado que las VLDL de ratas nefróticas están modificadas de tal manera que los TG, el mayor constituyente lipídico, no puede ser lipolizado eficientemente por los sistemas lipolíticos plasmáticos, ésto, junto con el aumento en la producción hepática de TG [F31] y VLDL [C3,M10], contribuye a la hipertrigliceridemia. Las ratas con SN inducido por ANP presentan una concentración plasmática de TG 10 veces mayor a la normal, mientras que su velocidad de secreción se eleva solo 1.2 veces sobre las ratas normales, sugiriendo que el catabolismo de los TG está alterado debido a cambios en la composición de las moléculas de VLDL o a cambios en la fisiología de los animales nefróticos. Sin embargo, el hecho de que en este estudio la actividad enzimática del sistema lipolítico de las enzimas lipoproteín lipasa (LPL), y lipasa hepática (LH) sea normal, el defecto en el catabolismo de las VLDL está directamente relacionado con la composición de las VLDL [F31].

Los cambios físicos y/o químicos en las partículas de lipoproteína pueden ocurrir ya que la actividad de lipolización por las lipasas endoteliales está disminuida y este defecto puede aumentarse si la afinidad del receptor para los remanentes de VLDL (postlipólisis) se reduce.

Se ha encontrado que las HDL excretadas en la orina de ratas nefróticas son ricas en proteína y ésteres de colesterol pero pobres en fosfolípidos, mientras que las HDL en plasma de ratas nefróticas presentan un bajo contenido en ésteres de colesterol y un alto contenido de fosfolípidos [S27].

En el plasma de animales nefróticos la apo A-IV y la apo E no están presentes en las partículas de HDL, lo que es consistente con los resultados que indican la presencia de grandes moléculas de HDL en donde apo A-I reemplaza a apo A-IV y a apo E como la mayor proteína [C3]. Otros estudios reportan que las HDL de ratas nefróticas contienen menos apoproteína E,C, y A-IV [M10,S45].

Las alteraciones en la composición de lipoproteínas en la nefrosis experimental pueden darse como un resultado de alteraciones en la producción de apolipoproteínas individuales.

La adición directa de apo A-I humana al plasma de ratas resulta en una reducción en el contenido de apo E de HDL *in vitro* e *in vivo* lo cual es paralelo a la reducción en el contenido de apo E de HDL observada en ratas nefróticas [M16].

Otros autores han observado que la adición *in vitro* de apo A-I humana al plasma humano inhibe el aumento del tamaño de HDL [H30]. Es posible que la adición de apo A-I retarda la producción de largas partículas de HDL que contienen más apo A-IV y apo E, ya que altos niveles de apo A-I pueden actuar competitivamente para desplazar apo E y apo A-IV de la superficie de HDL. Los resultados de los experimentos *in vitro* e *in vivo* sugieren que un aumento en la concentración de apo A-I en el plasma de ratas causa alteración en el tamaño y composición de HDL. Ya que este parámetro determina la función de HDL, el control de la expresión génica de apolipoproteínas puede proveer un mecanismo para gobernar el papel fisiológico de HDL en el transporte sanguíneo de lípidos.

Alteraciones en la síntesis de lipoproteínas en el SN.

Se han descrito defectos en todos los niveles de la vía metabólica de lipoproteínas, pero la causa primaria de la hiperlipoproteinemia parece ser el aumento en la velocidad de la síntesis hepática de lipoproteínas [T2,C3,M23,K33]; mientras que la disminución en el catabolismo juega un papel adicional [M23,G20].

La síntesis hepática de lipoproteínas (sitio 1, Figura 27) está aumentada en humanos y modelos animales con SN. Varios estudios en el SN, muestran un aumento en la velocidad de la síntesis hepática de los constituyentes lipídico y proteico de las fracciones de lipoproteína. Los estudios se han realizado en humanos con SN [M23,K33] y en modelos experimentales en aislamiento y perfusión de hígado [M10] o en rebanadas de hígado [G8].

En estudios con humanos [M23] se administró glicerol y ácido mevalónico marcado a pacientes con SN, y se encontró un aumento en la velocidad de recambio de triglicéridos y colesterol esterificado. La administración de LDL y de triglicéridos de origen humano [K33] marcados a pacientes nefróticos muestra un aumento absoluto en la velocidad de recambio de LDL y en la velocidad de síntesis de triglicéridos.

Además de las alteraciones anteriores, se ha propuesto en el SN una captura hepática defectuosa de IDL debida a anomalías en la molécula de IDL o en su receptor [K31]. El efecto de esta alteración puede eliminar la retroalimentación negativa en la síntesis lipídica hepática normalmente llevada a cabo por la captura y metabolismo de IDL.

Algunos autores han argumentado que el aumento en la producción hepática de lipoproteínas es simplemente un resultado del aumento en la síntesis de proteínas por el hígado en respuesta a la hipoalbuminemia. Apoyando esta idea, se ha observado que: a) hay una estrecha relación inversa entre los altos niveles de lípidos en sangre y la concentración de albúmina en plasma baja; b) cuando se da la remisión del SN, el colesterol en suero disminuye y la albúmina en suero aumenta; c) la infusión de albúmina a pacientes y ratas nefróticas eleva la concentración de albúmina en plasma y reduce los niveles de lipoproteínas y lípidos en suero [30,B17,B16,A17].

Se ha propuesto que, debido a que la albúmina y las VLDL siguen las mismas rutas sintéticas y secretoras en el hígado, las lipoproteínas forman parte del blanco cuyo principal objetivo es incrementar la producción de albúmina [B30]. Sin embargo, la explicación no es tan

sencilla, ya que pacientes con SN desarrollan marcada hiperlipidemia, en presencia de niveles cercanos a los normales de proteínas en plasma. También estudios en SN experimental, no demuestran correlación entre el aumento de lípidos y la disminución de albúmina en plasma [H18], por otra parte, la hiperlipoproteinemia no es un evento universal en el SN aún cuando se presenta hipoalbuminemia [B30].

Se han observado aumentos específicos en los niveles hepáticos y plasmáticos del ARNm de apolipoproteínas en la nefrosis experimental. Los ARNm de apo A-I y albúmina, se elevan en ratas tratadas con ANP [P36,M16]. Por un lado, se ha reportado que los niveles intestinales del ARNm de apolipoproteínas de ratas nefróticas, son iguales a los de ratas controles, lo que implica, que los factores que aumentan la expresión de los genes de las proteínas del suero en la nefrosis son específicos para el hígado [M16]. Por otro lado, se ha encontrado un aumento en los niveles hepáticos e intestinales del ARNm de apo A-I, lo que sugiere que los niveles plasmáticos de apo A-I derivan de la síntesis de apolipoproteína en el hígado e intestino [P36]. Algunos factores que podrían intervenir en el aumento del nivel del ARNm de apo A-I son el aumento en la estabilidad del ARNm y el aumento en la actividad transcripcional del gen de apo A-I [M16]. Además, durante la proteinuria puede haber pérdida de hormonas y otros constituyentes que normalmente inhiben la síntesis hepática de proteínas. Se ha demostrado que hormonas como la insulina, dexametasona [M19] y el estradiol [A20] alteran los niveles del ARNm hepático de apolipoproteínas. El aumento en el nivel del ARNm de apo A-I sugiere que hay una señal específica para aumentar la producción de apo A-I.

Estímulos que aumentan la síntesis de lipoproteínas.

Presión oncótica y viscosidad:

Se ha postulado que la albúmina per sé no es responsable de los altos niveles de lípidos en circulación, pero probablemente la baja concentración de albúmina produzca un efecto en el volumen sanguíneo o en la presión oncótica plasmática. Por lo que se han postulado otras hipótesis: una es que el estímulo en el hígado para aumentar la producción de lipoproteínas se relaciona con la reducción de la presión oncótica plasmática o la tonicidad. La infusión de dextrán o polivinilpirrolidona (PVP) en pacientes nefróticos o animales tiene un efecto en la disminución de lípidos comparable al de la infusión de albúmina [A15]. Además, se ha notado una reducción en el ARNm de apolipoproteína-B en cultivos de células de hígado cuando la albúmina o el dextrán se agregan al medio [P32,H18,A15].

Otra propuesta es que el aumento en la producción de lipoproteínas por el hígado puede ser una respuesta a la disminución de la viscosidad plasmática. La inyección de macromoléculas para aumentar la viscosidad del plasma retarda el desarrollo de hiperlipidemia y reduce los niveles de lípidos en sangre [V5]. Se sugiere que las lipoproteínas restauran la viscosidad del plasma en el SN, sin embargo, este argumento ha sido cuestionado por otros autores [A17].

Catabolismo de lipoproteínas en el SN.

En los humanos con SN se ha encontrado una disminución en la velocidad de remoción de lipoproteínas [M23] y una disminución en la depuración de triglicéridos del plasma [M23]. Por sí mismo, el aumento en la síntesis de lipoproteínas puede resultar en hiperlipidemia solo si las vías catabólicas se saturan. Más de un mecanismo parece ser responsable de la disminución en la velocidad catabólica de lipoproteínas en el SN.

En teoría, defectos en las enzimas LPL o LCAT, fisiología anormal de HDL, o la remoción defectuosa de LDL, previenen o reducen la remoción subsecuente de las VLDL. La inyección de lipoproteínas marcadas a pacientes con SN [G20] muestran disminución en la velocidad de conversión usual de VLDL a LDL.

En un principio se encontró que la actividad de LPL en el SN se presentaba normal [N10]. Sin embargo, algunos estudios han demostrado que la actividad de LPL se reduce del 30 al 60% de lo normal, defecto que retarda claramente la remoción de VLDL [C22]. La razón por la cual se reduce la actividad de LPL no se conoce; algunos autores piensan que es consecuencia de la hipoalbuminemia [K33,G20], debido a que los ácidos grasos liberados por la acción de LPL sobre VLDL normalmente se unen rápidamente a la albúmina, y la hipoalbuminemia permite la acumulación de los ácidos grasos libres en tejido adiposo, estado que retarda la actividad de LPL.

Otros autores creen que la LPL es inhibida por un factor plasmático circulante o que su acción es retardada por una deficiencia de apo-CII u otros péptidos activadores (como los HS) que aumentan por cambios en las velocidades de síntesis y pérdidas urinarias [K31,C22]. Se ha reportado que el nivel de apo-CII en plasma de pacientes nefróticos está aumentado, sin embargo, se presenta menos apo-CII por molécula de VLDL, es decir que el porcentaje proteico de VLDL normalmente presente como apo-CII está reducido. Es posible que por esta razón la potencia activadora de LPL por microgramo de TG o proteína de VLDL está disminuida [K17]. Por otro lado, la acumulación de colesterol es un fenómeno que inhibe la actividad de LPL [F17], lo cual sucede, cuando se reduce la cantidad de colesterol que es esterificado y transportado por moléculas de HDL. Como consecuencia, disminuye la cantidad de HDL que se sintetizan para transportar péptidos, cofactores importantes, dándose el incompleto catabolismo de VLDL o IDL [T1].

En ratas nefróticas se encontró actividad de LCAT en orina [G11] y en pacientes nefróticos la actividad de LCAT en suero está reducida [C37]. En pacientes con SN, dos mecanismos pueden ser los responsables para la disminución de la actividad de LCAT: la enzima puede perderse en la orina o la hipoalbuminemia puede reducir la actividad de LCAT [C37], ya que durante el proceso de esterificación del colesterol catalizado por LCAT se produce lisolecitina, la cual debe ser removida por la albúmina a una velocidad estable para que la reacción de LCAT proceda óptimamente, situación análoga a la reducción de LPL y los ácidos grasos libres. En el SN la hipoalbuminemia previene la remoción de lisolecitina a una velocidad adecuada por lo que la reacción de LCAT es más lenta, observándose una correlación entre la actividad de LCAT y la concentración de albúmina plasmática en pacientes con SN [C37]. La reducción en la actividad de LCAT provoca la acumulación de colesterol, lo que puede contribuir a la hipertrigliceridemia [T1]. Apoyando lo anterior, en estudios *in vitro* se ha mostrado que la ausencia de albúmina en el ensayo reduce la actividad de LCAT [F16].

Se ha sugerido un defecto en el catabolismo de VLDL responsable de los elevados niveles de lípidos plasmáticos en ratas nefróticas [G2]. Las VLDL de ratas nefróticas presentan una vida media mayor a las VLDL de ratas normales, lo que sugiere que las VLDL de ratas nefróticas presentan cierta resistencia a la acción de la lipasa hepática (LH) y de LPL; una baja en el contenido de apoproteína-CII en las VLDL de ratas nefróticas puede explicar la baja velocidad de su hidrólisis. Cuando las VLDL de ratas nefróticas son preincubadas con HDL de ratas normales, la velocidad lipolítica de las VLDL aumenta, mientras que la preincubación de estas VLDL nefróticas con HDL provenientes de ratas nefróticas no provoca aumento en la hidrólisis

de las VLDL [F31]. Se ha reportado que las apoproteínas E, C [C12] y B [B5] regulan la eficiencia catabólica de VLDL, y que todas las apoproteínas con excepción de las B se intercambian libremente entre las lipoproteínas. Es posible que la incapacidad de las HDL de ratas nefróticas para atenuar el defecto en el catabolismo de las VLDL puede reflejar un bajo depósito de apoproteínas de HDL disponibles para intercambiarse con las VLDL, lo cual apoya el concepto de un perfil anormal de apoproteínas en ratas nefróticas. Otro estudio en ratas nefróticas propone que la reducción de la velocidad catabólica de las HDL y sus apoproteínas, se debe a la saturación de la vía catabólica de lipoproteínas [S45].

Se ha observado que la IDL es la lipoproteína de mayor concentración en el plasma de ratas nefróticas, por lo que se ha propuesto una disminución en su catabolismo [G11], posiblemente relacionada con una actividad deficiente de LCAT [T1]. Se ha sugerido que en el SN las IDL se acumulan porque se bloquea su conversión a LDL a una velocidad adecuada, conforme el SN empeora las VLDL e IDL aumentan y las LDL disminuyen [B16]. Pocas investigaciones han seguido el recambio de apolipoproteína B, el mayor componente proteico de VLDL y LDL y el único constituyente integral para ambas partículas a través de su vida media en el plasma. Varios mecanismos pueden suprimir la actividad del receptor de LDL en el SN. En la nefrosis experimental, la reducción de la depuración renal de mevalonato en plasma incrementa la síntesis de colesterol hepática a partir de este precursor [G30], la expansión del depósito de esteroides intrahepáticos (sugerido por estudios en animales) [G26] puede reducir la actividad del receptor de LDL. Otra posible explicación es que la nefrosis modifica la capacidad de unión de LDL al alterar la conformación de apo B en la superficie de la partícula como se ha reportado en pacientes con insuficiencia renal crónica mantenidos en diálisis [G32].

En resumen, se propone que el aumento de LDL que contribuye a la hiperlipidemia es causado en parte por dos mecanismos independientes: cuando en los pacientes con SN se presentan niveles moderados de proteinuria (menos de 10 g/d), el catabolismo de LDL es defectuoso debido a la actividad reducida del receptor o a la interacción del ligando-receptor defectuosa, presentándose una velocidad de síntesis de LDL normal, por lo que estos estudios muestran un defecto en la depuración de LDL mediante la vía dependiente del receptor [W8]; en presencia de proteinuria masiva (más de 10 g/d, y el catabolismo de LDL se lleva a cabo por la vía independiente del receptor) el defecto en el catabolismo de LDL se complica al proponerse un aumento en la síntesis de LDL, ya que se observa un aumento en la concentración plasmática de LDL y un aumento en los niveles plasmáticos de VLDL y triglicéridos [W8]. Los factores que producen este aumento en la síntesis no se conocen, pero se sugiere que la disminución en la albúmina circulante en plasma y la presión oncótica plasmática pueden estimular el aumento general de la síntesis de proteínas hepáticas [A17].

Excreción de lipoproteínas en el SN.

Se han encontrado grandes cantidades de HDL en la orina de ratas [D35] y pacientes con SN [O13]. En un estudio se encontró HDL en la orina de ratas nefróticas (no se encontraron VLDL y LDL), la adición de esta orina nefrótica a un sistema *in vitro* de LPL, aumentó la hidrólisis de triglicéridos [D35], por lo tanto, los niveles normales o elevados de HDL en suero de pacientes nefróticos permiten que haya menos TG y colesterol libre. Es posible que el aumento de la síntesis de HDL por el hígado pueda compensar mejor las pérdidas urinarias en algunos casos que en otros. Durante la filtración glomerular y/o la captura por los túbulos renales, ocurren

modificaciones debido a la degradación proteolítica y/o lipolítica de lipoproteínas. El aumento de la actividad de proteasa, aparentemente de origen renal, se encontró en la orina nefrótica [S2,M20]. El papel del riñón en la reabsorción y filtrado selectivo de las mitades de proteína y lípidos de las lipoproteínas del plasma en circunstancias patológicas permanece por determinarse. Los lípidos en la orina pueden presentarse como grasas neutras, ácidos grasos, colesterol o ésteres de colesterol, ya sea contenidas dentro de células epiteliales o tubulares degeneradas (cuerpos grasos ovoides), o como gotas de grasa libres.

En la orina de pacientes y ratas nefróticas se han identificado apoproteínas A-I, A-II, C-II, C-III y partículas parecidas a HDL [D35,G9,G11]. El aumento de apoproteína A-I en el plasma ocurre a pesar de la pérdida de este péptido en la orina [D35]. En ratas tratadas con ANP, se encontró que la orina presentaba apo-E y grandes cantidades de apo-C, mientras que las ratas normales tenían en la orina apoproteínas A-I, A-II, E, y trazas de C [S27].

Las apoproteínas solubles en agua, en transferencia o intercambio con las lipoproteínas en la circulación, pueden existir por tiempos finitos sin asociarse con las partículas. Los PM de las apoproteínas libres son cercanos o menores a los de la albúmina (excepto la apo-B fuertemente unida a lípidos) y es posible que estas apoproteínas se pierdan en la orina de sujetos nefróticos, encontrándose apoproteínas sin formar complejos con lípidos; sin embargo, experimentalmente se ha encontrado que las apoproteínas en ratas con SN son excretadas en asociación con lípidos, con propiedades similares, pero no idénticas, a las de las HDL plasmáticas [S27]; además, la densidad estimada de las partículas parecidas a HDL en orina de ratas nefróticas es menor que las HDL del plasma, sugiriendo que las apoproteínas dentro de las partículas parecidas a HDL en la orina son más largas que las HDL del plasma [S27]. Se concluye que casi todas, o todas, las apolipoproteínas encontradas en la orina de ratas nefróticas están en complejos como partículas parecidas a lipoproteínas. Una explicación puede ser que algunas apoproteínas son quizás filtradas en su forma libre, pero suficientes fragmentos de HDL están presentes en la orina para unirse a las apoproteínas extra resultando en partículas más densas que en el plasma.

En estudios tempranos se encontraron niveles elevados de apo-CII en la orina de dos pacientes con SN [S51]; en otros estudios se observó en la orina de pacientes nefróticos la presencia de un glicosaminoglicano (GAG), posiblemente del tipo orosomucoide, y se demostró que es capaz de estimular la actividad de LPL [S50]. La pérdida en orina de apo-CII y de GAG en el SN puede reducir la actividad de LPL en estos pacientes; sin embargo, las pérdidas urinarias de apo-CII no son responsables de la disminución en la actividad de LPL ya que dichas pérdidas no se encuentran regularmente, y de cualquier manera, los niveles en sangre de apo-CII no se encuentran en un estado depletivo [K17].

Consecuencias de la Hiperlipidemia.

La consecuencia más importante de la hiperlipidemia es su potencial para inducir enfermedades cardiovasculares; sin embargo, existe controversia, un grupo de investigadores reporta aumento en la incidencia [M6] y el otro no [W9]. Los pacientes con SN presentan varios factores de riesgo para desarrollar enfermedad vascular y son: hipertensión, hipercoagulabilidad, hiperlipidemia (duración y persistencia), disminución en los niveles en suero de HDL [B29], proteinuria persistente y SN por años [M6]. Algunos niños nefróticos presentan prolongada hiperlipidemia aún después de la remisión por lo que presentan alto riesgo de desarrollar aterosclerosis prematura. La predisposición al desarrollo de enfermedades cardiovasculares ha

existido en individuos con alto colesterol total en suero [K2], y ya que casi todos los pacientes con SN presentan altos niveles de colesterol total en suero, parece razonable suponer que las enfermedades cardiovasculares pueden estar aumentadas en estos casos. Estudios de la relación entre los niveles de colesterol en suero y la mortalidad por enfermedad cardiovascular, sugieren que el factor crítico no es el nivel absoluto de colesterol total, sino el nivel asociado de HDL-colesterol o la proporción total de HDL-colesterol y los niveles de LDL-colesterol [G34]. Si los niveles de HDL se reducen (o están normales en presencia de colesterol total aumentado) y particularmente si el estado nefrótico persiste por algunos años, el riesgo de desarrollar enfermedad cardiovascular probablemente se incremente [G34].

Por otro lado, se ha observado que el plasma de pacientes con SN inhibe la respuesta normal linfoproliferativa a mitógenos, y el remover la fracción de lipoproteínas normaliza esta respuesta, sugiriendo que la hiperlipidemia es responsable de la inmunidad celular anormal en el SN [L15].

En resumen, parece evidente que en el SN la hipoalbuminemia, directa o indirectamente, es un factor crítico para iniciar la hiperlipoproteinemia. Los estudios disponibles sugieren que la hiperlipoproteinemia y la hiperlipidemia en el SN se deben no solo a un mecanismo, y son probablemente el resultado final de defectos en diferentes puntos a lo largo de la vía catabólica de las lipoproteínas y a un aumento en la velocidad de su síntesis hepática.

Metabolismo de Carbohidratos

La glucosa se halla presente normalmente en la sangre pero no en la orina. La glucosa es reabsorbida desde el filtrado glomerular a la sangre, contra un gradiente de concentración, por la acción de sistemas de transporte de membrana dependientes del ATP.

Una de las características del SN descrita en pocos pacientes, y todos niños, es la glucosuria. Se ha observado que el nivel de glucosa en la sangre no está alterada aún en presencia de una alta concentración de glucosa en la orina de niños nefróticos [B55]. Se ha postulado que la glucosuria en el SN se debe a un defecto en la reabsorción tubular [B55, M26, S49, S56, W24]. Este defecto en la reabsorción tubular se debe al daño de las células epiteliales tubulares ocasionado por el aumento en la reabsorción tubular de las proteínas filtradas, presentándose como una manifestación de esta alteración la glucosuria [W24]. Las alteraciones paralelas a la glucosuria son la aminoaciduria y la hiperfosfatúria. En varios estudios se ha sugerido que la disfunción tubular renal en el SN puede tener un valor de diagnóstico y pronóstico, la aparición de múltiples defectos tubulares en un niño con SN de tipo idiopático puede indicar un mal pronóstico [B55, M26].

Existen pocos estudios acerca del metabolismo de carbohidratos en el SN. Se ha reportado que cuando el ANP se inyecta i.v. hay una disminución gradual de los niveles de glucosa en sangre que pueden ser consecuencia de la disminución de la gluconeogénesis o del aumento de la glucólisis y/o utilización de la glucosa, sin embargo en el músculo uno de los mayores tejidos donde se consume la glucosa, no se presenta un aumento en la utilización de la glucosa. Por lo que existe una disminución de la gluconeogénesis renal en ratas nefróticas por ANP, que contribuye a la baja concentración de glucosa en sangre después de la administración del ANP [V6]. La inhibición de la gluconeogénesis se observa 24 horas después de la inyección i.v. de ANP, antes de que se muestren cambios ultraestructurales [V9, M30] y proteinuria, esta inhibición es más prominente conforme el SN se desarrolla.

En un estudio *in vitro* la adición de ANP al medio de incubación inhibe la formación de carbohidratos por el hígado a partir de substratos endógenos [E2]; por otro lado, los esteroides adrenales estimulan la síntesis de carbohidratos en rebanadas de hígado incubadas con alanina. Cuando se adiciona ANP al medio de incubación, el efecto hormonal en la gluconeogénesis se reduce [E2]. También se ha reportado una disminución en el contenido de glucógeno en el hígado y músculo y una rápida disminución en los niveles de glucosa en sangre y una disminución en la actividad de glucosa-6-fosfatasa (G-6-Pasa) en el hígado de ratas con SN inducido por ANP. La disminución de la actividad de la glucosa-6-fosfatasa puede inhibir la gluconeogénesis hepática [K42].

Se ha demostrado que el ANP inhibe la gluconeogénesis renal a partir de varios

precursores gluconeogénicos como lo son: piruvato, alfa-OG, succinato, fumarato, pero esta inhibición es mayor a partir del alfa-OG, lo que indica que el metabolismo del alfa-OG en la vía gluconeogénica de la corteza renal es más vulnerable al ANP [76]. Los substratos gluconeogénicos son metabolizados a través del CAC antes de entrar a la vía gluconeogénica al nivel de PEP vía oxalacetato. Las ratas con SN inducido por ANP muestran un efecto inhibitorio en el metabolismo del ácido cítrico (CAC) y una disminución de la formación de fosfoenolpiruvato (PEP) a partir del oxalacetato, posiblemente interfiriendo con la oxidación del alfa-oxoglutarato (alfa-OG) en el tejido cortical renal [77].

En resumen, la glucosuria que es una alteración presente en algunos niños nefróticos, se debe a un defecto en la reabsorción tubular. En el SN experimental se ha reportado que el ANP interfiere con la gluconeogénesis y el metabolismo del CAC en el riñón. Este pudiera ser uno de los efectos metabólicos a través de los cuales el ANP produce el SN en las ratas.

Conclusiones

Tanto en el área científica como en la humanística para entender algún fenómeno ya sea de tipo social o biológico es necesario ubicar el fenómeno en general, para después ir especializándose en este. Esto que consideramos importante lo hemos plasmado en el desarrollo de esta tesis, así, para entender los estudios acerca de las características fisiopatológicas, los mecanismos de acción y las alteraciones metabólicas que se presentan en el SN humano y experimental, lo cual fué el objetivo de ésta tesis, fué necesario introducir en la misma, una serie de antecedentes que explicaran la anatomía, fisiología y bioquímica renal normal (capítulo 1), para después comprender las alteraciones anatómicas, fisiológicas y bioquímicas que se presentan durante la enfermedad. Debido a que la filtración de proteínas plasmáticas en la orina trae como consecuencia las alteraciones metabólicas ya descritas en detalle a lo largo de la tesis se propone que existen alteraciones en el tamaño y carga de los poros de la barrera de filtración glomerular, presentándose un aumento en el tamaño del poro para permitir el paso de proteínas de gran tamaño, que bajo condiciones normales su paso está restringido, además junto con el aumento de tamaño del poro se propone la pérdida de la barrera electrostática, la cual está constituida por los grupos cargados negativamente de las proteínas que forman la barrera de filtración glomerular, entre las cuales se encuentran: los grupos sulfato de los PGHS y la cubierta de ácido siálico de las sialoproteínas de superficie celular de las células epiteliales glomerulares y de las endoteliales. Aparte del aumento en el tamaño de los poros y de la pérdida de carga de éstos, se ha propuesto que existen desprendimientos focales de las CEG a través de los cuales escapan proteínas al espacio urinario, sin embargo no se asegura que exista una relación entre la pérdida de carga de estas zonas y el desprendimiento epitelial. En cuanto a la pérdida de la barrera electrostática formada por los PGHS en el modelo experimental de SN con ANP, algunos autores han propuesto que se debe a que existen alteraciones en la composición de la parte proteica del PGHS, la cual es más pequeña durante la nefrosis, algunas propuestas para explicar la disminución de la estructura proteica de los PGHS son: la disminución o alteración en la síntesis de la proteína por CEG, aumento parcial de la degradación de la proteína y/o alteraciones en las características de organización en la matriz de la MBG. Se ha encontrado que la expresión de los genes de algunos componentes de la MBG están regulados anormalmente en la nefrosis por ANP, así los niveles del ARNm de PGHS se encuentran disminuídos, mientras los de lamininas A,B1,B2 y colágena alfa 1(IV) están aumentados, esta expresión génica anormal puede resultar en la alteración del ensamblaje de la MBG y probablemente pueda contribuir a la proteinuria. La

caracterización de los mecanismos que regulan la expresión de los componentes de la MBG en los niveles transcripcional y traduccional, son necesarios para entender las vías que permiten el ensamblaje de estos componentes, en ausencia de mediciones directas de velocidad de la síntesis y degradación de proteínas, y estabilidad del mensajero, las conclusiones sólo son tentativas. Se propone que la alteración de los genes de las proteínas de la MBG en la nefrosis por ANP se debe a un efecto directo y específico de éste, y es probable que la alteración en la expresión de estos genes no es parte de un fenómeno general en el que se encuentre alterada la expresión de todos los ARNm. De hecho el nivel del ARNm de otra proteína (PGHS de médula renal), no se modifica en el SN con ANP, lo que sugiere que el efecto del ANP en el ARNm de los PGHS es específico del glomérulo. Se han propuesto varios mecanismos de daño en el SN experimental, los cuales dependen del modelo experimental, pero en general se considera que la formación de metabolitos tóxicos del oxígeno entre ellos los radicales libres (como el radical superóxido O_2^- ; el radical hidroxilo OH^- y el peróxido de hidrógeno H_2O_2) producen la lipoperoxidación de los ácidos grasos insaturados presentes en los lípidos de membrana, lo que provoca alteración en su estructura. En el modelo experimental con adriamicina se proponen algunos mecanismos para la formación de radicales libres del oxígeno directamente relacionados con la estructura de la ADR, o bien mediante el posible mecanismo de la producción de radicales superóxido por medio de la vía xantina oxidasa del metabolismo de las purinas, y en base a evidencias indirectas se proponen otras vías alternas a la del metabolismo de las purinas como lo es la vía del metabolismo de pirimidinas (vía del guanosín monofosfato), por lo que se concluye que no existe un solo mecanismo para explicar el daño producido por la ADR. En el modelo experimental de SN por suero nefrotóxico (SNT) se tiene el mecanismo de daño por secreción de enzimas lisosomales por los granulocitos, así como el mecanismo de producción de radicales libres del oxígeno por los neutrófilos, sin embargo existen evidencias en contra de éste último mecanismo. Además de los radicales libres, también se ha propuesto como posible mediador de la proteinuria en éste modelo a las prostaglandinas. En el modelo experimental con ANP se propone que los radicales libres producidos por la degradación del ANP vía xantina oxidasa, son los responsables del efecto nefrotóxico del ANP, sin embargo existen evidencias en contra de lo anterior por lo que se ha sugerido que la formación de radicales libres es a través de otra vía diferente a la vía xantina oxidasa, o bien que existen otros factores además de la formación de radicales libres del oxígeno que intervienen en la proteinuria, por lo que podemos decir que aún no hay un mecanismo definido a través del cual se explique el efecto nefrotóxico del ANP.

Debido a que el síndrome nefrótico se caracteriza por proteinuria, albuminuria, hipoalbuminemia, alteraciones en la concentración de casi todas las proteínas plasmáticas, anormalidades en la coagulación, alteraciones inmunológicas de tipo humoral y celular, aumento en la susceptibilidad de infecciones, alteraciones en el metabolismo de hormonas, hipercolesterolemia, hiperlipoproteinemia, hiperlipidemia, edema y retención de sodio, es decir alteración de todas las rutas metabólicas como consecuencia del aumento en la filtración de proteínas plasmáticas a nivel glomerular, las expectativas que se tienen en cuanto al SN y sus modelos experimentales son muy grandes dentro del campo de la biología molecular y la genética, el investigar el mecanismo a nivel genético nos ayudaría a entender porque cada proteína presenta un patrón de regulación específico durante la nefrosis, y al conocer los factores que regulan este mecanismo existiría la posibilidad de modificar o evitar algunas de las alteraciones metabólicas en el SN. En cuanto al mecanismo de acción de los modelos

experimentales de SN aún falta por estudiarse, se tienen algunos mecanismos de acción sin embargo es necesario establecer el mecanismo o los mecanismos exactos para entender las alteraciones de la barrera de filtración glomerular y para conocer las alteraciones genéticas que regulan éstos cambios que provocan la proteinuria.

BIBLIOGRAFIA

- A1. Anderson KE, Rosner W, Khan MS, New MI, Pang S, Wissel PS, Kappas A. Diet-hormone interactions: protein/carbohydrate ratio alters reciprocally the plasma levels of testosterone and cortisol and their respective binding globulins in man. *Life Sci* 1987;40:1761-1768.
- A2. Abrahamson DR, Caulfield JP. Proteinuria and structural alterations in rat glomerular basement membranes induced by intravenously injected anti-laminin immunoglobulin G. *J Exp Med* 1982; 156:128-145.
- A4. Abrahamson DR. Post-embedding colloidal gold immunolocalization of laminin to the lamina rara interna, lamina densa, and lamina rara externa of renal glomerular basement membranes. *J Histochem Cytochem* 1986; 34:847-853.
- A6. Abuchowski A, McCoy JR, Palczuk NC, Theo Van ES, Davis FF. Effect of covalent attachment of polyethylene glycol on immunogenicity and circulating life of bovine liver catalasa. *J Biol Chem* 1977;252:3582-3586.
- A7. Adachi T, Fukuta M, Ito Y, Hirano K, Sugiura M, Sugiura K. Effect of superoxide dismutase on glomerular Nephritis. *Biochem Pharmacol* 1986; 35:341-345.
- A8. Adler AJ, Lundin AP, Feinroth MV, Friedman EA, Berlyne GM. β -thromboglobulin levels in the nephrotic syndrome. *Am J Med* 1980;69:551-554.
- A10. Afrasiabi MA, Vaziri ND, Gwinup G, Mays DM, Barton CH, Ness RL, Valenta LJ. Thyroid function studies in the nephrotic syndrome. *Ann Int Med* 1979;90:335-338.
- A11. Alexander CS, Hunt VR. Inhibition of aminonucleoside nephrosis in rats: II. Effect of nucleic acid precursors and L-triiodothyronine. *Proc Soc Exp Biol* 1961;108:706-709.
- A12. Alexander CS, Nagasawa HT, Filbin D. Distribution and excretion of aminonucleoside-8- C^{14} in normal and nephrotic rats. *Proc Soc Exp Biol Med* 1962;111:521-526.
- A13. Alfrey AC, Hammond WS. Renal iron handling in the nephrotic syndrome. *Kidney Int* 1990;37:1409-1413.
- A15. Allen JC, Baxter JH, Goodman HC. Effects of dextran, polyvinylpyrrolidone and gamma globulin on the hyperlipidemia of experimental nephrosis. *J Clin Invest* 1961;40:499-508.
- A17. Appel Gb, Blum CB, Chien S, Kunis CL, Appel AS. The hyperlipidemia of the nephrotic syndrome. Relation to plasma albumin concentrations, oncotic pressure, and viscosity. *N Engl J Med* 1985;312:1544-1548.
- A18. Arévalo AE, Ibarra-Rubio ME, Cruz C, Peña JC, Pedraza-Chaverri J. Angiotensin-I-converting enzyme activity in puromycin aminonucleoside-nephrotic syndrome. *Clin Chim Acta* 1990;191:175-184.
- A19. Arcamone F, Cassinelli G, Franceschi G. Structure and physicochemical properties of adriamycin (doxorubicin). En: Carter SK, Dimarco A, Ghione M, eds. *Int Symp Adriamycin*. New York: Springer, 1972:9-22.
- A20. Archer TK, Tam S, Deeley RG. Kinetics of estrogen-dependent modulation of apolipoprotein A-I synthesis in human hepatoma cells. *J Biol Chem* 1986; 261:5067-5074.
- A21. Aro M, Hardwicke J. Subclass composition of monomeric and polymeric IgG in the serum of patients with nephrotic syndrome. *Clin Nephrol* 1984;22:244-252.
- A22. Aust SD, Morehouse LA, Thomas CE. Role of metals in oxygen radical reactions. *J Free Radicals Biol Med* 1985;1:3-25.
- A23. Auwerx J, De Keyser L, Bouillon R, De Moor P. Decreased free 1,25-dihydroxy

- cholecalciferol index in patients with the nephrotic syndrome. *Nephron* 1986;42:231-235.
- A24. Avasthi PS, Avasthi P, Tokuda S, Anderson RE, Williams RC. Experimental glomerulonephritis in the mouse. I. The model. *Clin Exp Immunol* 1971;9:667-676.
- A25. Avasthi PS, Koshy V. Glomerular endothelial glycocalyx. *Contrib Nephrol* 1988, 68:104-113.
- A26. Abrahamson DR. Structure and development of the glomerular capillary wall and basement membrane. *Am J Physiol* 1987;253:F783-F794.
- B1. Babel W, Glanville RW. Structure of human basement membrane (type IV) collagen: complete amino acid sequence of a 914 residue long pepsinfragment from the alpha-1(IV) chain. *Eur J Biochem* 1984;143:545-556.
- B3. Bagchus WM, Donga J, Hoedemaeker PhJ, Bakker WW. The specificity of nephritogenic antibodies. II. Immune complex glomerulopathy in rats induced by heterologous antithymocyte serum. *Transplantation* 1984; 38:165-169.
- B4. Bakala H, Geloso-Meyer A, Cheignon M, Schaevebeke J. Differentiation of the glomerular filtration barrier in the rat fetus: possible role of collagen. *Connect Tissue Res* 1985;13: 283-290.
- B5. Baker BR, Joseph JP, Williams JH. Puromycin synthetic studies. VII. Partial synthesis of amino acid analogs. *J Am Chem Soc* 1954;76:2838.
- B7. Barger AC, Herd JA. Renal vascular anatomy and distribution of blood flow. En: Orloff J, Berliner RW, eds. *Handbook of physiology sect 8, Renal Physiology*, Washington: Am Physiol Soc 1973:185-248.
- B8. Barger AC, Herd JA. The renal circulation. *N Engl J Med* 1971;284:482-490.
- B9. Barnes JL, Radnik RA, Gilchrist EP, Venkatachalam MA. Size and charge selective permeability defects induced in glomerular basement membrane by a polycation. *Kidney Int* 1984;25:11-19.
- B10. Baret HL, Schoeneman M, Bernstein J, Edelmann CM, Jr. The Nephrotic Syndrome. En: Chester M. Edelmann Jr, eds. *Pediatric Kidney Disease, Vol II*. Boston: Little Brown & Co, 1978:679-694.
- B11. Barnett HL, Schoeneman M, Bernstein J, Edelmann CM, Jr. Minimal change nephrotic syndrome. En: Chester M. Edelmann Jr, eds. *Pediatric Kidney Disease, Vol II*. Boston: Little Brown & Co, 1978:695-711.
- B13. Barragry JM, France MW, Carter ND, Auton JA, Beer M, Boucher BJ, Cohen RD. Vitamin D metabolism in nephrotic syndrome. *Lancet* 1977;2:629-631.
- B14. Batifora HA, Markowitz AS. Nephrotoxic nephritis in monkeys. Sequential light, immunofluorescence and electron microscopic studies. *Am J Pathol* 1969;55:267-282.
- B16. Baxter JH, Goodman HC, Havel RJ. Serum lipid and lipoprotein alterations in nephrosis. *J Clin Invest* 1960;39:455-465.
- B17. Baxter JH. Hyperlipoproteinemia in nephrosis. *Arch Intern Med* 1962;109:742-757.
- B19. Beaman M, Birtwistle R, Howie AJ, Michael J, Adu D. The role of superoxide anion and hydrogen peroxide in glomerular injury induced by puromycin aminonucleoside in rats. *Clin Sci* 1987;73:329-332.
- B20. Beaman M, Oldfield S, MacLennan ICM, Michael J, Adu D. Hypogammaglobulinaemia in nephrotic rats is attributable to hypercatabolism of IgG. *Clin Exp Immunol* 1988;74:425-430.

- B21. Behnke O, Zelander T. Preservation of intercellular substances by the cationic dye alcian blue in preparative procedures for electron microscopy. *J Ultrastruct Res* 1970;31:424-438.
- B22. Bender BL, Jaffe R, Carlin B, Chung AE. Immunolocalization of entactin, a sulfated basement membrane component in rodent tissues, and comparison with GP-2 (laminin). *Am J Pathol* 1981;103:419-426.
- B23. Bennet CM, Glasscock RJ, Chang RLS, Deen WM, Robertson CR, Brenner BM. Permeability of the glomerular capillary wall: studies of experimental glomerulonephritis in the rat using dextran sulfate. *J Clin Invest* 1976;57:1287-1294.
- B25. Bennhold H, Klaus D, Scheurlen PG. Volume regulation and renal function in analbuminemia. *Lancet* 1960;2:1169-1170.
- B26. Bensman A, Dardenne M, Murnaghan K, Vasmant D, Bach JF. Decreased biological activity of serum thymic hormone (thymulin) in children with nephrotic syndrome. *Int J Pediatr Nephrol* 1984;5:201-204.
- B28. Bernard DB, Alexander EA. Edema formation in the nephrotic syndrome. Pathophysiologic mechanisms. *Cardiovasc Med* 1979;4:605-625.
- B29. Bernard DB. Extrarenal complications of the nephrotic syndrome. *Kidney Int* 1988;33:1184-1202.
- B30. Bernard DB. Metabolic abnormalities in nephrotic syndrome: pathophysiology and complications, in: Brenner BM, Stein JA, eds. *Controversies in Nephrology, The Nephrotic syndrome*. Vol 9, New York: Churchill Livingstone, 1982, pp 85-120.
- B32. Bertani T, Cutillo F, Zoja C, Brogini M, Remuzzi G. Tubulo-interstitial lesions mediate renal damage in adriamycin glomerulopathy. *Kidney Int* 1986;30:488-496.
- B33. Bertani T, Poggi A, Pozzoni R, DeLaini F, Sacchi G, Thoua Y, Mecca G, Remuzzi G, Donati MB. Adriamycin-induced nephrotic syndrome in rats. Sequence of pathologic events. *Lab Invest* 1982;46:16-23.
- B34. Bertani T, Rocchi G, Mecca G, Sacchi G, Remuzzi G. Adriamycin induced chronic proteinuria: A new model of glomerular focal sclerosis. *Kidney Int* 1983;23:192,(Resumen).
- B35. Bertazzoli C, Chieli T, Ferni G, Ricevuti G, Solcia E. Chronic toxicity of adriamycin: A new antineoplastic antibiotic. *Toxicol Appl Pharmacol* 1972;21:287-301.
- B36. Bertolatus JA, Hunsicker KG. Polycation binding to glomerular basement membrane. Effect of biochemical modification. *Lab Invest* 1987;56:170-179.
- B37. Bertolatus JA, Hunsicker LG. Glomerular sieving of anionic and neutral bovine albumins in proteinuric rats. *Kidney Int* 1985;28:467-476.
- B38. Beukers JJB, Hoedemaeker PJ, Weening JJ. A comparison of the effects of converting-enzyme inhibition and protein restriction in experimental nephrosis. *Lab Invest* 1988;59:631-640.
- B40. Bhuyan UN. Biochemical studies of the isolated rat glomerulus and the effect of puromycin aminonucleoside administration. *Br J Exp Path* 1980;61:69-75.
- B44. Blau EB, Hass DE. Glomerular sialic acid and proteinuria in human renal disease. *Lab Invest* 1973;28:477-481.
- B45. Blum RH, Carter SK. Adriamycin: a new anticancer drug with significant clinical activity. *Ann Intern Med* 1974;80:249-259.

- B46. Blum RH. An overview of studies with adriamycin (NSC 123127) in the United States. *Cancer Chemother Rep* 1975;6:247-251.
- B47. Bohlin AB, Berg U. Renal sodium handling in minimal change nephrotic syndrome. *Arch Dis Child* 1984;59:825-830.
- B49. Bohrer MP, Baylis C, Robertson CR, Brenner BM. Mechanisms of the puromycin-induced defects in the transglomerular passage of water and macromolecules. *J Clin Invest* 1977;60:152-161.
- B50. Bohrer MP, Baylis V, Humes HD, Glassock RJ, Robertson CR, Brenner BM. Permeability of the glomerular capillary wall. Facilitated filtration of circulating polycations. *J Clin Invest* 1978;61:72-78.
- B51. Bohrer MP, Deen WM, Robertson CR, Brenner BM. Mechanism of angiotensin II-induced proteinuria in the rat. *Am J Physiol* 1977;2:F13-F21.
- B52. Bolton WK, Tucker FL, Sturgill BC. Experimental autoimmune glomerulonephritis in chickens. *J Clin Lab Immunol* 1980;3:179-184.
- B54. Borowsky BA, Kessner DM, Recant L. Structural analogues of puromycin in production of experimental nephrosis in rats. *Proc Soc Exp Biol Med* 1958;97:857-860.
- B55. Bouissou F, Barthe PL, Pierragi M Th. Severe idiopathic nephrotic syndrome with tubular dysfunction (report of nine pediatric cases). *Clin Nephrol* 1980;14:135-141.
- B57. Brenner BM, Hostetter TH, Hulmes HD. Glomerular permeability: barrier function based on discrimination of molecular size and charge. *Am J Physiol* 1978;234:F455-F460.
- B58. Brenner BM, Hostetter TH, Humes HD. Molecular basis of proteinuria of glomerular origin. *N Engl J Med* 1978;298:826-833.
- B59. Brenner BM, Meyer TW, Hostetter TH. 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. *N Engl J Med* 1982;307:652-659.
- B61. Bright R. Reports of medical cases selected with a view to illustrating the symptoms and cure of diseases by reference to *Morbid Anatomy* (vol 1). London, Longmans Green 1827.
- B63. Brown DM, Michael AF, Oegema TR. Glycosaminoglycan synthesis by glomeruli in vivo and in vitro. *Biochim Biophys Acta* 1981;674:96-104.
- B64. Brown EA, Markandu N, Sagnella GA, Jones BE, MacGregor GA. Sodium retention in nephrotic syndrome is due to an intrarenal defect. Evidence from steroid-induced remission. *Nephron* 1985;39:290-295.
- B65. Brown EA, Markandu ND, Rouslton JE, Jones BE, Squires M, MacGregor GA. Is the renin-angiotensin-aldosterone system involved in the sodium retention in the nephrotic syndrome?. *Nephron* 1982;32:102-107.
- B66. Brown EA, Markandu ND, Sagnella GA, Jones BE, MacGregor GA. Lack of effect of captopril on the sodium retention of the nephrotic syndrome. *Nephron* 1984;37:43-48.
- B67. Brown EA, Markandu ND, Sagnella GA, Squires M, Jones BE, MacGregor GA. Evidence that some mechanism other than the renin system causes sodium retention in nephrotic syndrome. *Lancet* 1982;2:1237-1240.
- B68. Buhl MR, Kemp E, Kemp G. Purine nucleotide and nucleoside administration to kidneys: the effect on tolerance to ischemia. En: Pegg DA, Jacobsen IA, eds. *Organ Preservation II*. London: Churchill-Livingstone, 1977:247.

- B70. Buonassisi V, Root M. Enzymatic degradation of heparin related mucopolysaccharides from the surface of endothelial cell cultures. *Biochim Biophys Acta* 1975;385:1-10.
- C1. Cairns SA, London RA, Mallick NP. Circulating immune complex in idiopathic glomerular disease. *Kidney Int* 1982;21:507-512.
- C3. Calandra S, Gherardi E, Fainaru M, Guitani A, Bartosek I. Secretion of lipoproteins, apolipoprotein A-I and apolipoprotein E by isolated and perfused liver of rat with experimental nephrotic syndrome. *Biochim Biophys Acta* 1981;665:331-338.
- C5. Cameron JS, Turner DR, Ogg CS, Sharpstone P, Brown CB. The nephrotic syndrome in adults with "minimal change" glomerular lesions. *Q J Med* 1974;43:461-488.
- C6. Cameron JS. Coagulation and thromboembolic complications in the nephrotic syndrome. *Adv Nephrol* 1984;13:75-114.
- C7. Camussi G, Brentjens JR, Noble B, Kerjaschki D, Malavasi F, Roholt OA, Farquhar MG, Andres G. Antibody-induced redistribution of Heymann antigen on the surface of cultured glomerular visceral epithelial cells: possible role in the pathogenesis of Heymann glomerulonephritis. *J Immunol* 1985;135:2409-2416.
- C8. Careddu P. Comportamento dell'aminoacidemia e dell'aminoaciduria dopo il carico in soggetti nefritici e nefrosici. *Boll Soc Ital Biol Sper* 1952;28:1194.
- C9. Carlin B, Jaffe R, Bender B, Chung AE. Entactin, a novel basal lamina-associated sulfated glycoprotein. *J Biol Chem* 1981; 256:5209-5214.
- C10. Carlin BE, Durkin ME, Bender B, Jaffe R, Chung AE. Synthesis of laminin and entactin by F9 cells induced with retinoic acid and dibutyryl cyclic AMP. *J Biol Chem* 1983;258:7729-7737.
- C12. Carlson LA, Ballantyne D. Changing relative proportion of apoprotein CII and CIII of very low density lipoproteins in hypertriglyceridemia. *Atherosclerosis* 1976;23:563-568.
- C13. Cartwright GE, Gubler CJ, Wintrobe MM. Studies on copper metabolism. XI. Copper and iron metabolism in the nephrotic syndrome. *J Clin Invest* 1954;33:685-698.
- C14. Carvalho ACA, Colman RW, Lees RS. Platelet function in hyperlipoproteinemia. *N Engl J Med* 1974;290:434-438.
- C16. Caulfield JP, Farquhar MG. Distribution of anionic sites in glomerular basement membranes. Their possible role in filtration and attachment. *Proc Natl Acad Sci USA* 1976;73:1646-1650.
- C17. Caulfield JP, Farquhar MG. Loss of anionic sites from the glomerular basement membrane in aminonucleoside nephrosis. *Lab Invest* 1978;39:505-512.
- C18. Caulfield JP, Farquhar MG. The permeability of glomerular capillaries of aminonucleoside nephrotic rats to graded dextrans, *J Exp Med* 1975;142:61-83.
- C19. Caulfield JP, Farquhar MG. The permeability of glomerular capillaries to graded dextrans. Identification of the basement membrane as the primary filtration barrier. *J Cell Biol* 1974;63:883-903.
- C20. Caulfield JP, Reid JJ, Farquhar MG. Alterations of the glomerular epithelium in acute aminonucleoside nephrosis. *Lab Invest* 1976;34:43-59.
- C21. Caulfield JP. Alterations in the distribution of Alcian blue-staining fibrillar anionic sites in the glomerular basement membrane in aminonucleoside nephrosis. *Lab Invest* 1979;40:503-511.
- C22. Chan MK, Varhese Z, Persaud JM, Moorhead JF. Post hepatic and lipoprotein lipase

- activities in nephrotic syndrome. *Aust NZ J Med* 1984;14:841-847.
- C23. Chan YL, Mason RS, Parmentier M, Savdie E, Lissner D, Posemn S. Vitamin D metabolism in nephrotic rats. *Kidney Int* 1983;24:336-341.
- C24. Chandra M, Hoyer JR, Lewy JE. Renal function in rats with unilateral proteinuria produced by renal perfusion with aminonucleoside. *Pediatr Res* 1981;15:340-344.
- C25. Chang RLS, Deen WM, Robertson CR, Brenner BM. Permselectivity of the glomerular capillary wall. III. Restricted transport of polyanions. *Kidney Int* 1975;8:212-218.
- C26. Chang RLS, Robertson CR, Deen WM, Brenner BM. Permselectivity of the glomerular capillary wall to macromolecules. I Theoretical considerations. *Biophys J* 1975;15:861-886.
- C27. Chang RLS, Ueki IF, Troy JL, Deen WM, Robertson CR, Brenner BM. Permselectivity of the glomerular capillary wall to macromolecules. II. Experimental studies in rats using neutral dextran. *Biophys J* 1975;15:887-906.
- C30. Charonis AS, Tsilibary EC, Yurchenco PD, Furthmayr H. Binding of laminin to type IV collzgen: A morphological study. *J Cell Biol* 1985;100:1848-1853.
- C31. Chisari EV. Immunoregulatory properties of human plasma in very low density lipoproteins. *J Immunol* 1977;119:2129-2136.
- C32. Christensen EI, Carone FA, Rennke HG. Effect of molecular charge on endocytic uptake of ferritin in renal proximal tubule cells. *Lab Invest* 1981;44:351-358.
- C33. Cochrane CG, Unanue ER, Dixon FJ. A role of polymorphonuclear leukocytes and complement in nephrotoxic nephritis. *J Exp Med* 1965;122:99-116.
- C35. Coggins CH. Management of nephrotic syndrome. In: Brenner BN, Stein JH, eds. *Contemporary issues in nephrology*. New York:Churchill Livingstone, vol IX, 1982:283.
- C36. Cohen AH, Mampaso F, Zamboni L. Glomerular podocyte degeneration in human renal disease. *Lab Invest* 1972;37:30-42.
- C37. Cohen L, Cramp DG, Lewis AD, Tickner TR. The mechanism of hyperlipidemia in nephrotic syndrome -Role of low albumin and the LCAT reaction. *Clin Chim Acta* 1980;104:393-400.
- C38. Cohen MP, Wu VY, Surma ML. Non-collagen protein and proteoglycan in renal glomerular basement membrane. *Biochim Biophys Acta* 1981;678:322-328.
- C41. Cooper AR, McQueen HA. Subunits of laminin are differentially synthesized in mouse eggs and early embryos. *Devol Biol* 1983;96:467-471.
- C42. Cooper AR, Taylor A, Hogan BLM. Changes in the rate of laminin and entactin synthesis in F9 embryonal carcinoma cells treated with retinoic acid and cyclic AMP. *Devol Biol* 1983;99:510-516.
- C43. Coovadia HM, Adhikari M, Morel-Maroger L. Clinico-pathological features of the nephrotic syndrome in South African children. *Q J Med* 1979;48:77-91.
- C44. Correa R, Gamba G, Ochoa C, Onuma L, Reyes E, Tamayo J, Peña J. Glomerulonefritis membranosa. Experiencia en el Instituto Nacional de la Nutrición Salvador Zubirán. *Rev Invest Clin*. 1990;42:114-119.
- C45. Cotugno D. *De ischiade nervosa*. Commentarius (ed 3). Vienna, Graeffter 1774. (First edition 1770; translations from this book can be found in: Dock W: Some early observers of proteinuria. *Ann Med Hist* 1922;4:287-290.
- C46. Courtoy Pj, Timpl R, Farquhar MG. Comparative distribution of laminin, type IV collagen,

- and fibronectin in the rat. *J Histochem Cytochem* 1982;30:874-886.
- C47. Couser W, Badger A, Cooperband S, Stilmant M, Jermanovich N, Aurora S, Doner D, Schmitt G. Hodgkin's disease and lipid nephrosis. *Lancet* 1977;1:912-913.
- C48. Couser WG, Stilmant M, Lewis EJ. Experimental glomerulonephritis in the guinea pig. I. Glomerular lesions associated with antiglomerular basement membrane antibody deposits. *Lab Invest* 1973;29:236-243.
- C49. Cruz C, Juárez-Nicolás F, Tapia E, Correa-Rotter R, Pedraza-Chaverrí J. Abnormalities of coagulation in experimental nephrotic syndrome. (En prensa).
- C50. Couser WG. In situ formation of immune complexes and the role of complement activation in glomerulonephritis. *Clin Immunol Allergy* 1986;6:287-306.
- D2. D'Amico G, Remuzzi G, Maschio G, Gentile MG, Gotti E, Oldrizzi L, Manna G, Mecca G, Rugiu C, Fellin G. Effect of dietary proteins and lipids in patients with membranous nephropathy and nephrotic syndrome. *Clin Nephrol* 1991;35:237-242.
- D3. Dale AR. Structure and development of the glomerular capillary wall and basement membrane. *Am J Physiol* 1987;253:F783-F794.
- D4. Daniels WB. Plasma-lipoids in renal disease. *Brit J Exp Pathol* 1925;6:283.
- D5. Dardenne M, Pleau J-M, Nabarra B, Lefrancier P, Derrien M, Choay J, Bach J-F. Contribution of zinc and other metals to the biological activity of the serum thymic factor. *Proc Natl Acad Sci USA* 1982;79:5370-5373.
- D6. Davies RW, Staprans I, Hutchinson FN, Kaysen GA. Proteinuria, not altered albumin metabolism, affects hyperlipidemia in the nephrotic rat. *J Clin Invest* 1990;86:600-605.
- D8. Deen WM, Bohrer MD, Robertson CR, Brenner BM. Determinant of the transglomerular passage of macromolecules. *Fed Proc* 1977;36:2614.
- D9. Deen WM, Robertson CR, Brenner BM. Transcapillary fluid exchange in the renal cortex. *Circ Res* 1973;33:1.
- D10. Dehnel PJ, Klein DJ, Oegema TR, Michael AF, Brown DM. Glomerular 3S-glycosaminoglycan (GAG) metabolism in aminonucleoside-induced (PAN) nephrotic syndrome in rats. *Kidney Int* 1983;23:181.
- D11. Derr RF, Alexander CS, Nagasawa HT. Metabolism of puromycin aminonucleoside in the normal, "pre-nephrotic" and nephrotic rat. *Proc Soc Exp Biol Med* 1967;125:248-252.
- D12. Derr RF, Loechler DK, Alexander CS, Nagasawa CS. Inhibition of aminonucleoside nephrosis in rats: IV. Prevention by N6-methyadenosine. *J Lab Clin Med* 1968;72:363-369.
- D13. Derr RF, Loechler DK, Alexander CS, Nagasawa HT. Inhibition of rat liver microsomal N-demethylase by O-naphthylisothiocyanate: studies with puromycin aminonucleoside. *Proc Soc Exp Biol Med* 1967;126:844-845.
- D14. DiMarco A. Adriamycin (NSC-123127): Mode and mechanism of action. *Cancer Chemother Rep* 1975;6:91-106.
- D15. Diamant S, Shafir E. Lipogenesis in aminonucleoside-induced nephrotic syndrome. *Biochim Biophys Acta* 1974;360:241-251.
- D16. Diamond JR, Bonventre JV, Karnovsky MJ. A role for oxygen free radicals in aminonucleoside nephrosis. *Kidney Int* 1986;29:478-483.
- D18. Diamond JR, Karnovsky MJ. Focal and segmental glomerulosclerosis following a single intravenous dose of puromycin aminonucleoside. *Am J Pathol* 1986;122:481-487.

- D19. Dickie N, Alexander CS, Nagasawa HT. Inhibition of nucleic acid synthesis in *Escherichia coli* B by puromycin aminonucleoside. *Biochim Biophys Acta* 1965;95:156-169.
- D22. Donadio JV, Torres VE, Velosa JA, Velosa JA, Wagoner RD, Holley KE, Okamura M, Ilstrop DM, Chu CP. Idiopathic membranous nephropathy: the natural history of untreated patients. *Kidney Int* 1988;22:708-715.
- D25. Dorhout Mees EJ, Geers AB, Koomans HA. Blood volume and sodium retention in the nephrotic syndrome. A controversial pathophysiological concept. *Nephron* 1984;36:201-211.
- D26. Dorhout Mees EJ, Roos JC, Boer P, Oei HY, Simatupang TA. Observations on edema formation in the nephrotic syndrome in adults with minimal lesions. *Am J Med* 1979;67:378-384.
- D28. Drabkin DL, Marsh JB. Metabolic channeling in experimental nephrosis. I. Protein and carbohydrate metabolism. *J Biol Chem* 1955;212:623-631.
- D29. Duncan KG, Fessler LI, Bächinger HP, Fessler JH. Procollagen IV. Association to tetramers. *J Biol Chem* 1983;258:5869-5877.
- D30. Dyck RF, Lockwood CM, Kershaw M, McHugh N, Duance VC, Baltz ML, Pepys MB. Amyloid P component is a constituent of normal human glomerular basement membrane. *J Exp Med* 1980;152:1161-1174.
- D31. Dziadek M, Fujiwara S, Paulsson M, Timpl R. Immunological characterization of basement membrane types of heparan sulfate proteoglycan. *EMBO J* 1985;4:905-912.
- D32. Dziadek M, Paulsson M, Timpl R. Identification and interaction repertoire of large forms of the basement membrane protein nidogen. *EMBO J* 1985;4:2513-2518.
- D33. Dziadek M, Timpl R. Expression of nidogen and laminin in basement membranes during mouse embryogenesis and in teratocarcinoma cells. *Dev Biol* 1985;111:372-382.
- D34. de Jong FA, Schreiber G. Messenger RNA levels of plasma proteins in rat liver during protein depletion and refeeding. *J Nutr* 1987;117:1795-1800.
- D35. de Mendoza SG, Kashyap ML, Chen CY, Lutmer RF. High density lipoproteinuria in nephrotic syndrome. *Metabolism* 1976;25:1143-1149.
- D36. Deen WM, Myers BD, Brenner BM. The glomerular barrier to macromolecules: theoretical and experimental considerations. En: Brenner BM, Stein JH, eds, *Contemporary issues in nephrology IX. Nephrotic Syndrome, Cap 1*. New York:Churchill Livingstone, 1982:1-29.
- D37. de Heer E, Daha MR, Bhakdi S, Bazin H, Van Es LA. Possible involvement of terminal complement complex in active Heymann nephritis. *Kidney Int* 1985;27:388-393.
- E1. Edgington TS, Glasscock RJ, Dixon FJ. Autologous immune complex glomerulonephritis induced with renal tubular antigen. I. Identification and isolation of the pathogenetic antigen. *J Exp Med* 1968;127:555-572.
- E2. Eisenstein AB. Adrenocortical hormones and carbohydrate synthesis in liver. En: Weber G, ed. *Advances in enzyme regulation*. Vol 3. Oxford:Pergamon Press Inc, 1965:121.
- E3. Eliot H, Gianni L, Myers C. Oxidative destruction of DNA by the adriamycin-iron complex. *Biochemistry* 1984;23:928-936.
- E4. Ellis D. Anemia in the course of the nephrotic syndrome secondary to transferrin depletion. *J Pediatr* 1977;90:953-962.
- E5. Elovson J, Huang YO, Baker N, Kannan R. Apolipoprotein B is structurally and metabolically heterogeneous in rat. *Proc Natl Acad Sci USA* 1981;78:157-161.

- E7. Engel J, Odermatt E, Engel A, Madri JA, Furthmayr H, Rohde H, Timpl R. Shapes, domain organizations and flexibility of laminin and fibronectin, two multifunctional proteins of the extracellular matrix. *J Mol Biol* 1981;150:97-120.
- E8. Epstein AA. The nature and treatment of chronic parenchymatous nephritis (nephrosis). *J Am Med Ass* 1917;69:444.
- E9. Ericsson JLE, Andres GA. Electron microscopic studies on the development of the glomerular lesions in aminonucleoside nephrosis. *Am J Pathol* 1961;39:643-663.
- E11. Esterbauer H, Cheeseman KH. Determination of aldehydic lipid peroxidation products: Malonaldehyde and 4-hydroxynonenal. *Methods in enzymology* 1990;186:407-421.
- F1. Fajardo LF, Eltringham JR, Stewart JR, Klauber MR. Adriamycin nephrotoxicity. *Lab Invest* 1980;43:242-253.
- F2. Fantone JC, Ward PA. Role of oxygen derived free radicals and metabolites in leukocyte dependent inflammatory reactions. *Am J Pathol* 1982;107:395-418.
- F3. Farnham A. Effect of aminonucleoside (of puromycin) on normal and encephalomyocarditis (EMC) virus-infected L cells. *Virology* 1965;27:73-79.
- F4. Farquhar MG, Lemkin MC, Stow JL. Role of proteoglycans in glomerular function and pathology. En: Robinson RR, eds. *Nephrology Today. Proceedings of the IXth International Congress of Nephrology*. New York:Springer-Verlag. 1985:580-600.
- F5. Farquhar MG, Palade GE. Behavior of colloidal particles in the glomerulus. *Anat Rec* 1959;133:378-389.
- F6. Farquhar MG, Palade GE. Functional evidence for the existence of a third cell type in the renal glomerulus. Phagocytosis of filtration residues by a distinctive "third" cell. *J Cell Biol* 1962;13:55-87.
- F7. Farquhar MG, Palade GE. Glomerular permeability, II. Ferritin transfer across the glomerular capillary wall in nephrotic rats. *J Exp Med* 1961;114:699-715.
- F8. Farquhar MG, Wissig SL, Palade GE. Glomerular permeability: I. Ferritin transfer across the normal glomerular capillary wall. *J Exp Med* 1961;113:47-66.
- F9. Farquhar MG. Structure and function in glomerular capillaries. Role of the basement membrane in glomerular filtration. En: Kefalides, eds. *Biology and chemistry of basement membranes*. New York:Academic Press, 1978:43-80.
- F10. Farquhar MG. The glomerular basement membrane. A selective macromolecular filter. En: Hay ED, eds. *Cell Biology of extracellular matrix*. New York:Plenum, 1981:335-378.
- F11. Farquhar MG. The primary glomerular filtration barrier-basement membrane or epithelial slits? Editorial Review. *Kidney Int* 1975;8:197-211.
- F12. Farr LE, MacFadyen DA. Hypoamino-acidemia in children with nephrotic crises. *Am J Dis Child* 1940;59:782-792.
- F13. Farr LE. The assimilation of protein by young children with the nephrotic syndrome. *Am J Med* 1938;195:70
- F14. Fasman GD. *CRC Practical Handbook of Biochemistry & Molecular Biology*. Boca Raton, FL, CRC Press, 1990.
- F16. Fielding CJ, Shore VG, Fielding PE. Lecithin cholesterol acyltransferase. Effects of substrate composition upon enzyme activity. *Biochim Biophys Acta* 1972;270:513-518.
- F17. Fielding CJ. Human lipoprotein lipase inhibition of activity by cholesterol. *Biochim Biophys Acta* 1970;218:221-226.

- F18. Finkelstein E, Rosen GM, Rauckman EJ. Spin trapping of superoxide and hydroxyl radical: practical aspects. *Arch Biochem Biophys* 1980;200:1-16.
- F20. Fishman JA, Karnovsky MJ. Effects of aminonucleoside of puromycin on glomerular epithelial cells in vitro. *Am J Pathol* 1985;118:398-407.
- F21. Fitch FW, Wissler RW, LaVia M, Barker P. The timing of antigen injection relative to whole body x-irradiation and the development of circulating antibody and the splenic histologic reaction in the rat. *J Immunol* 1956;76:151.
- F22. Fleck A, Raines G, Hawker F, et al. Increased vascular permeability. A major cause of hypoalbuminemia in disease and injury. *Lancet* 1985;ii:781-784.
- F23. Flower RJ, Moncada S, Vane JR. Analgesic-antipyretics and antiinflammatory agents: drugs employed in the treatment of gout. En: Gilman AG, Goodman LS, Gilman A, eds. *The Pharmacological basis of therapeutics*. 6th Ed. New York:McMillan Publishing Co, 1908:571.
- F24. Fodor P, Saituna MT, Rodríguez E, Gonzales B, Schlesinger L. T-cell dysfunction in minimal-change nephrotic syndrome of childhood. *Am J Dis Child* 1982;136:713-717.
- F25. Fox JW, Butkowski RJ, Hudson BG. Detergent-prepared glomerular basement membrane is composed of a heterogenous group of polypeptides. *J Biol Chem* 1981;256:9313-9315.
- F26. Freeman RM, Richards CJ, Rames LK. Zinc metabolism in aminonucleoside induced nephrosis *Am J Clin Nutr* 1975;28:699-703.
- F27. Frenk S, Antonowicz JM, Craig JM, Metcalf J. Experimental nephrotic syndrome induced in rats by aminonucleoside. Renal Lesions and body electrolyte composition. *Proc Soc Exp Biol Med* 1955;89:424-427.
- F28. Freundlich M, Bourgoignie JJ, Zilleruelo G, Jacobs AI, Canterbury JM, Strauss J. Bone modulating factors in nephrotic children with normal glomerular filtrate rate. *Pediatrics* 1985;76:280-285.
- F29. Friedmann S, Strober S, Field EH, Silverman E, Meyers BD. Glomerular capillary wall function in human lupus nephritis. *Am J Physiol* 1984;15:F580-F591.
- F30. Fujiwara S, Wiedemann H, Timpl R, Lustig A, Engel J. Structure and interactions of heparan sulfate proteoglycans from a mouse tumor basement membrane. *Eur J Biochem* 1984;143:145-157.
- F31. Furukawa S, Hirano T, Mamo JCL, Nagano S, Takahashi T. Catabolic defect of triglyceride is associated with abnormal very-low-density lipoprotein in experimental nephrosis. *Metabolism* 1990;39:101-107.
- G1. Galaske RG, Baldamus CA, Stolte H. Plasma protein handling in the rat kidney: micropuncture experiments in the acute heterologous phase of anti-GBM-nephritis. *Pflüegers Archiv: Eur J Physiol* 1978;375:269.
- G2. Garber DW, Gottlieb BA, Marsh JB, Sparks CHE. Catabolism of very low density lipoproteins in experimental nephrosis. *J Clin Invest* 1984;74:1375-1383.
- G3. García DL, Renke HG, Brenner BM, Anderson S. Chronic glucocorticoid therapy amplifies glomerular injury in rats with renal ablation. *J Clin Invest* 1987;80:867-874.
- G4. Garin EH, Sausville PJ, Richard GA. Impaired primary antibody response in experimental nephrotic syndrome. *Clin Exp Immunol* 1983;52:595-598.
- G6. Garnett ES, Webber CE. Changes in blood-volume produced by treatment of the nephrotic syndrome. *Lancet* 1967;ii:798-799.

- G7. Gasse JP, Dubois R, Staroukine M, Lambert PP. Determination of glomerular intracapillary and transcapillary pressure gradients from sieving data. III. The effects of angiotensin II. *Pflugers Arch* 1976;367:15-24.
- G8. Gherardi E, Calandra S. Experimental nephrotic syndrome induced in the rat by puromycin aminonucleoside. Hepatic synthesis of neutral lipids and phospholipids from ³H-water and ³H-palmitate. *Lipids* 1980;15:108-112.
- G9. Gherardi E, Calandra S. Plasma and urinary lipids and lipoproteins during the development of nephrotic syndrome induced in the rat by puromycin aminonucleoside. *Biochim Biophys Acta* 1981;710:188-196.
- G10. Gherardi E, Messori M, Rozzi R, Calandra S. Experimental nephrotic syndrome in the rat induced by puromycin aminonucleoside: hepatic synthesis of lipoproteins and apolipoproteins. *Lipids* 1980;15:858-863.
- G11. Gherardi E, Vecchia L, Calandra S. Experimental nephrotic syndrome in the rat induced by puromycin aminonucleoside. Plasma and urinary lipoproteins. *Exp Mol Pathol* 1980;32:128-142.
- G12. Ghiggeri GM, 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.
- G13. Ghiggeri GM, Ginevri F, Cercignani G, Oleggini R, Garberi A, Candiano G, Altieri P, Gusmano R. Effect of dietary protein restriction on renal purines and purine-metabolizing enzymes in adriamycin nephrosis in rats: a mechanism for protection against acute proteinuria involving xanthine oxidase inhibition. *Clin Sci* 1990;79:647-656.
- G14. Giangiacomo J, Clearly TG, Cole BR, Hoffsten P, Robson AM. Serum immunoglobulins in the nephrotic syndrome. A possible cause of minimal change nephrotic syndrome. *N Engl J Med* 1975;293:8-12.
- G16. Gianni L, Zweier JL, Levy A, Myers CE. Characterization of the cycle of iron-mediated electron transfer from adriamycin to molecular oxygen. *J Biol Chem* 1985;260:6820-6826.
- G17. Ginevri F, Gusmano R, Oleggini R, Acerbo S, Bertelli R, Perfumo F, Ghiggeri G. Renal purine efflux and xanthine oxidase activity during experimental nephrosis in rats: difference between puromycin aminonucleoside and adriamycin nephrosis. *Clin Sci* 1990;78:283-293
- G18. Girot R, Jaubert F, Leon M, Bellon B, Aiach M, Jasso F, Lepelletier O, Beguin S, Monnet JP. Albumin, fibrinogen, prothrombin and antithrombin III variations in blood, urines and liver in rat nephrotic syndrome (Heymann nephritis). *Tromb Haemostas* 1983;49:13-17.
- G20. Gitlin D, Cornwell DG, Nakasato D, Oncley JL, Hughes EL, Janeway CA. Studies on the metabolism of plasma proteins in the nephrotic syndrome. II. The lipoproteins. *J Clin Invest* 1958;37:172-184.
- G21. Gitlin D, Janeway CA, Farr LE. Studies on the metabolism of plasma proteins in the nephrotic syndrome. I. Albumin, α -globulin and iron-binding globulin. *J Clin Invest* 1956;35:44-56.
- G22. Glasser RJ, Velosa JA, Michael AF. Experimental model of focal sclerosis. I. Relationship to protein excretion in aminonucleoside nephrosis. *Lab Invest* 1977;36:519-526.
- G23. Glasscock RJ. Corticosteroid therapy is beneficial in adults with idiopathic membranous glomerulopathy. *Am J Kidney Dis* 1982;1:376-385.

- G24. Glascock RJ. The nephrotic syndrome. *Hosp Pract* 1979;14:105-129.
- G25. Gofman JW, Rubin L, McGinley JP, Jones HB. Hyperlipoproteinemia. *Am J Med* 1954;17:514.
- G26. Goldberg ACK, Eliaschewitz FC, Quintao ECR. Origin of hypercholesterolemia in chronic experimental nephrotic syndrome. *Kidney Int* 1977;12:23-27.
- G27. Goldstein DA, Haldimann B, Sherman D, Norman AW, Massry SG. Vitamin D metabolites and calcium metabolism in patients with nephrotic syndrome and normal renal function. *J Clin Endocrinol Metabol* 1981;52:116-121.
- G28. Goldstein DA, Oda Y, Kurokawa K, Massry SG. Blood levels of 25-hydroxy-vitamin D in nephrotic syndrome. Studies in 26 patients. *Ann Int Med* 1977;87:664-667.
- G29. Goldstein JL, Brown MS. The low density lipoprotein pathway and its relationship to atherosclerosis. *Ann Rev Biochem* 1977;46:897-930.
- G30. Golper TA, Feingold KR, Fulford MH, Siperstein MD. The role of circulating mevalonate in nephrotic hypercholesterolemia in the rat. *J Lipid Res* 1986;27:1044-1051.
- G32. Gonen B, Goldberg AP, Harter HR, Schonfeld G. Abnormal cell interactive properties of low density lipoproteins isolated from patients with chronic renal failure. *Metabolism* 1985;34:10-14.
- G33. Goodyer PR, Kaplan F, Kaplan BS. In vitro incorporation of $^{35}\text{SO}_4$ into glomerular basement membrane is reduced in puromycin aminonucleoside nephrosis. *Kidney Int* 1984;25:211,(Resumen).
- G34. Gordon T, Castelli WP, Hjortland MC, Kannel WB, Dawber TR. High density lipoprotein as a protection factor against coronary heart disease. *Am J Med* 1977;62:707-714.
- G35. Graham RC, Karnovsky MJ. Glomerular permeability. Ultrastructural cytochemical studies using peroxidases as protein tracers. *J Exp Med* 1966;124:1123-1124.
- G37. Graham RC, Kellermeyer RW. Bovine lactoperoxidase as a cytochemical protein tracer for electron microscopy. *J Histochem Cytochem* 1968;16:275-278.
- G38. Granger DN, Rutili G, McCord J. Superoxide radicals in feline intestinal ischemia. *Gastroenterology* 1981;81:22-29.
- G39. Grisham MB, McCord JM. Chemistry and cytotoxicity of reactive oxygen metabolites. En: *Physiology of oxygen radicals*. Am Physiol Society 1986; cap I. pp 1-18.
- G40. Groggel GC, Hovingh, Border WA, Linker A. Changes in glomerular heparan sulfate in puromycin aminonucleoside nephrosis. *Am J Pathol* 1987;128:521-527.
- G41. Grond J, Beukers JJB, Schilthuis MS, Weening JJ, Elema JD. Analysis of renal structural and functional features in two rat strains with a different susceptibility to glomerular sclerosis. *Lab Invest* 1986;54:77-83.
- G42. Grond J, Koudstaal J, Elema JD. Mesangial function and glomerular sclerosis in rats with aminonucleoside nephrosis. *Kidney Int* 1985;27:405-410.
- G44. Grond J, Van Goor H, Weening JJ, Elema JD. Glomerular sclerosis in nephrotic rats. Interstrain differences in response to puromycin aminonucleoside. *Kidney Int* 1987;31:1043,(Resumen).
- G45. Grond J, Weening JJ, Elema JD. Glomerular sclerosis in nephrotic rats: comparison of the long-term effects of adriamycin and aminonucleoside. *Lab Invest* 1984;51:277-285.
- G47. Grond J, Weening JJ, Goor H van, Elema JD. Application of Puromycin Aminonucleoside and adriamycin to induce chronic renal failure in the rat. *Contr Nephrol* 1988;60:83-93.

- G48. Groniowski J, Biczyskowa W, Walski M. Electron microscope studies on the surface coat of the nephron. *J Cell Biol* 1969;40:585-601.
- G49. Gross F, Buschor O, Zeugi P. Renin in the kidneys of rats with aminonucleoside nephrosis. *Am J Physiol* 1960;199:1-4.
- G50. Gugler R, Shoeman DW, Huffman DH, Cohlmlia JB, Azarnoff DL. Pharmacokinetics of drugs in patients with the nephrotic syndrome. *J Clin Invest* 1975;55:1182-1189.
- G51. Grond J, Muller EW, Goor HV, Weening JJ, Elema JD. Differences in puromycin aminonucleoside nephrosis in two rat strains. *Kidney Int* 1988;33:524-529.
- H1. Habib R, Kleinknecht C. The primary nephrotic syndrome of childhood. Classification and clinicopathologic study of 406 cases. En: Sommers, S.C. eds. *Pathology Annual*. New York: Appleton-Century-Crofts, 1971:417-474.
- H2. Habib R. Focal glomerular sclerosis. *Kidney Int* 1973;4:355-361.
- H4. Hall R L, Wilke W L, Fettman M J. The progression of adriamycin-induced nephrotic syndrome in rat and the effect of captopril. *Toxicol Appl Pharmacol* 1986;82:164-174.
- H5. Halliwell B, Gutteridge JMC. Oxygen free radicals and iron in relation to biology and medicine: some problems and concepts. *Arch Biochem Biophys* 1986;246:501-514.
- H6. Hardwicke J, Hulme B, Jones JH, Ricketts CR. Measurement of glomerular permeability to polydisperse radioactivity labelled macromolecules in normal rabbits. *Clin Sci* 1968;34:505-514.
- H7. Hardwicke J, Squire JR. The relationship between plasma albumin concentration and protein excretion in patients with proteinuria. *Clin Sci* 1955;14:509-530.
- H8. Hartman JD, Hartman JD, Baldrige RC. Inhibition of aminonucleoside nephrosis by adenine. *Proc Soc Exp Biol Med* 1959;100:152-155.
- H9. Hartman JD. The effect of adenine in aminonucleoside nephrosis. *J Lab Clin Med* 1962;59:158-168.
- H10. Hassell JR, Robey PG, Barrach H, Wilczek J, Rennard SI, Martin GR. Isolation of a heparan sulfate-containing proteoglycan from basement membrane. *Proc Natl Acad Sci USA* 1980;77:4494-4498.
- H11. Heeg JE, de Jong PE, van der Hem GK, de Zeeuw D. Reduction of proteinuria by angiotensin converting enzyme inhibition. *Kidney Int* 1987;32:78-87.
- H13. Hewitt RI, Gumble AR, Wallace WS, Williams JH. Experimental chemotherapy of trypanosomiasis. IV. Reversal by purines of the in vivo activity of puromycin and an amino nucleoside analog, against *Trypanosoma equiperdum*. *Antibiot Chemother* 1954;4:1222-1227.
- H15. Heymann W, Hackel DB, Harwood S, Wilson SGF, Hunter JLP. Production of nephrotic syndrome in rats by Freund's adjuvant and rat kidney suspensions. *Proc Soc Exp Biol Med* 1959;100:660-664.
- H16. Heymann W, Lund HZ, Hackel DB. The nephrotic syndrome in rats; with special reference to the progression of the glomerular lesion and to the use of nephrotoxic sera obtained from ducks. *J Lab Clin Med* 1952;39:218.
- H17. Heymann W, Lund HZ. Nephrotic syndrome in rats. *Pediatrics* 1951;7:691-706.
- H18. Heymann W, Nash G, Gilkey C, Lewis M. Studies on the causal role of hypoalbuminemia in experimental nephrotic hyperlipemia. *J Clin Invest* 1958;37:808-812.
- H19. Higgins EG, Richert DA, Westerfield WW. Molybdenum deficiency and tungstate inhibition

- studies. *J Nutr* 1956;59:539-559.
- H21. Hirschberg RR, Zipser RD, Slomowitz LA, Kopple JD. Glucagon and prostaglandins are mediators of amino acid-induced rise in renal hemodynamics. *Kidney Int* 1988;33:1147-1155.
- H23. Hoedemaeker J. Experimental glomerulonephritis. En: Davidson Am eds. *Nephrology*. Vol I. Xth Int. Congress of Nephrology. Cambridge: University Press, 1988:409-440.
- H24. Hogan BLM, Cooper AR, Kurkinen M. Incorporation into Reichert's membrane of laminin-like extracellular proteins, synthesized by parietal endoderm cells of the mouse embryo. *Dev Biol* 1980;80:289-300.
- H25. Hogan BLM, Taylor A, Cooper AR. Murine parietal endoderm cells synthesise heparan sulfate and 170K and 145K sulfated glycoproteins as components of Reichert's membrane. *Dev Biol* 1982;90:210-214.
- H26. Hogan BLM, Taylor A, Kurkinen M, Couchman JR. Synthesis and localization of two sulphated glycoproteins associated with basement membranes and the extracellular matrix. *J Cell Biol* 1982;95:197-204.
- H27. Hogendoorn PCW, Bruijn JA, Heer E, et al. Antibodies to purified renal tubular epithelial antigens contain activity against glomerular basement membrane components laminin, fibronectin and type IV collagen. *Xth Int Congr Nephrology*. London. 1987.
- H28. Hooft C, Herpol J. Aminoaciduria in the course of lipid nephrosis in children. The influence of ACTH. *Acta Paediatr* 1959;48:135-148.
- H30. Hopkins GJ, Barter PJ. Apolipoprotein A-I inhibits transformation of high density lipoprotein subpopulations during incubation of human plasma. *Atherosclerosis* 1989;75:73-82.
- H31. Horster M. Ontogenetic processes in nephron epithelia: function, enzymes, and structure. En: Seldin DW, Giebisch G, eds. *The Kidney, Physiology and Pathophysiology*. New York:Raven, 1985:317-332.
- H32. Horster M. Principles of nephron differentiation. *Am J Physiol* 1978;235:F387-F393.
- H33. Horvat R, Hovorka A, Dekan G, Poczewski H, Kerjaschki D. Endothelial cell membranes contain podocalyxin the major sialoprotein of visceral glomerular epithelial cells. *J Cell Biol* 1986;102:484-491.
- H36. Housley J, Jones L, Harvey A. Serum α -macroglobulins in rat aminonucleoside nephrosis. *Clin Chim Acta* 1968;21:85-90.
- H37. Hoyer JR, Raji L, Vernier RL, Simmons RL, Najarian JS, Michael AF. Recurrence of idiopathic nephrotic syndrome after renal transplantation. *Lancet* 1972;2:343-348.
- H38. Hoyer JR, Ratté J, Potter AH, Michael AF. Transfer of aminonucleoside nephrosis by renal transplantation. *J Clin Invest* 1972;51:2777-2780.
- H39. Hoyer JR. Idiopathic nephrotic syndrome with minimal glomerular changes. En: Brenner BM, Stein JH, eds. *The Nephrotic Syndrome*. cap 6, New York:Churchill Livingstone, 1982:145-173.
- H40. Hoyer JR. Unilateral renal disease in the rat. II. Glomerular mesangial uptake of colloidal carbon in unilateral aminonucleoside nephrosis and nephrotoxic serum nephritis. *Lab Inv* 1976;34:250-255.
- H44. Hunsicker LG, Shearer TP, Shaffer SJ. Acute reversible proteinuria induced by infusion of the polycation hexadimethrine. *Kidney Int* 1981;20:7-17.

- H45. Hunsicker LG, Shearer TP. A model of acute reversible proteinuria induced by polycation infusion. *Kidney Int* 1979;16:783.
- H46. Hutchings BL. Puromycin. En: Wolstenholme GEW, O'Connor CM, eds. *Chemistry and Biology of purines*. Boston:Little Brown, 1957:177-191.
- I1. Ibarra-Rubio ME, Cruz C, Tapia E, Peña JC, Pedraza-Chaverri J. Serum angiotensin converting enzyme activity and plasma renin activity in experimental models of rats. *Clin Exp Pharmacol Physiol* 1990;17:391-399.
- I2. Ichikawa I, Rennke HG, Hoyer JR, Badr KF, Schor N, Troy JL, Lechene CP, Brenner BM. Role of intrarenal mechanisms in the impaired salt excretion of experimental nephrotic syndrome. *J Clin Invest* 1983;71:91-103.
- I3. Iitaka K, West CD. A serum inhibitor of blastogenesis in idiopathic nephrotic syndrome transferred by lymphocytes. *Clin Immunol Immunopathol* 1979;12:62-71.
- I7. Ibarra-Rubio ME, Pedraza-Chaverri J, Panduro A. Differential regulation in the expression of hepatic genes in nephrotic and pair-fed rats. *Nephron* 1993;65:119-124.
- J1. Jacob SW, Francone CA, Lossow WJ. *Anatomía y Fisiología humana*. 4ªed. México:Nueva Editorial Interamericana SA de CV. 1982:93.
- J2. Jensen H, Bro-Jørgensen K, Jarnum S, Olesen H, Yssing M. Transferrin metabolism in the nephrotic syndrome and in protein-losing gastroenteropathy. *Scand J Clin Lab Invest* 1968;21:293-304.
- J3. Jensen H. Plasma protein and lipid pattern in the nephrotic syndrome. *Acta Med Scand* 1967;182:465-473.
- J4. Jeraj K, Fish AJ, Yoshioka K, Michael AF. Development and heterogeneity of antigens in the immature nephron. Reactivity with human antiglomerular basement membrane autoantibodies. *Am J Pathol* 1984;117:180-183.
- J5. Johansson SV, Odar-Cederlöf I, Plantin LO, Strandberg PO. Albumin metabolism and gastrointestinal loss of protein in chronic renal failure. *Acta Med Scand* 1977;201:353-358.
- J6. Johnson JL, Waud WR, Cohen HJ, Rajagopalan KV. Molecular basis of the biological function of molybdenum: molybdenum-free xanthine oxidase from livers of tungsten treated rats. *J Biol Chem* 1976;249:5056-5061.
- J7. Jones DB. Mucosubstances of the glomerulus. *Lab Invest* 1969;21:119-125.
- K1. Kaits AL. Albumin metabolism in nephrotic adults. *J Lab Clin Med* 1959;53:186-194.
- K2. Kannel WB, Gordon T. *The Framingham Study*. Washington DC. US Department of Health, Educational and Welfare, 1970.
- K3. Kanwar YS, Farquhar MG. Anionic sites in the glomerular basement membrane. In vivo and in vitro localization to the lamina rara by cationic probes. *J Cell Biol* 1979;81:137-153.
- K4. Kanwar YS, Farquhar MG. Detachment of endothelium and epithelium from the glomerular basement membrane produced by perfusion with neuraminidase. *Lab Invest* 1980;42:375-384.
- K5. Kanwar YS, Farquhar MG. Isolation of glycosaminoglycans (heparan sulfate) from glomerular basement membranes. *Proc Natl Acad Sci* 1979;76:4493-4497.
- K6. Kanwar YS, Farquhar MG. Presence of heparan sulfate in the glomerular basement membrane. *Proc Natl Acad Sci USA* 1979;76:1303-1307.
- K7. Kanwar YS, Hascall VC, Farquhar MG. Partial characterization of newly synthesized

proteoglycans isolated from the glomerular basement membrane. *J Cell Biol* 1981;90:527-532.

- K8. Kanwar YS, Jakubowski ML. Unaltered anionic sites of glomerular basement membrane in aminonucleoside nephrosis. *Kidney Int* 1984;25:613-618.
- K9. Kanwar YS, Linker A, Farquhar MG. Increased permeability of the glomerular basement membrane to ferritin after removal of glycosaminoglycans (heparan sulfate) by enzyme digestion. *J Cell Biol* 1980;86:688-693.
- K10. Kanwar YS, Rosenzweig LJ, Kerjaschki DI. Glycosaminoglycans of the glomerular basement membrane in normal and nephrotic states. *Renal Physiol, Basel* 1981;4:121-130.
- K11. Kanwar YS, Rosenzweig LJ. Altered glomerular permeability as a result of focal detachment of visceral epithelium. *Kidney Int* 1982;21:565-574.
- K12. Kanwar YS, Rosenzweig LJ. Clogging of the glomerular basement membrane. *J Cell Biol* 1982;93:489-494.
- K13. Kanwar YS, Veis A, Kimura JH, Jakubowski ML. Characterization of heparan sulfate proteoglycan of glomerular basement membranes. *Proc Natl Acad Sci USA* 1984;81:762-766.
- K14. Kanwar YS. Biophysiology of glomerular filtration and proteinuria. *Lab Invest* 1984;51:7-21.
- K15. Karnofsky DA, Clarkson BD. Cellular effects of anticancer drugs. *Ann Rev Pharmacol* 1963;3:357-428.
- K16. Karnovsky MJ. The ultrastructure of glomerular filtration. *Ann Rev Med* 1979;30:213-224.
- K17. Kashyap ML, Srivastava LS, Hynd BA, Brandy D, Perisutti G, Glueck CJ, Gartsin PS. Apolipoprotein CII and lipoprotein lipase in human nephrotic syndrome. *Atherosclerosis* 1980;35:29-40.
- K19. Kasinath BS, Singh AK, Kanwar YS, Lewis EJ. Effect of puromycin aminonucleoside on HSPG core protein content of glomerular epithelial cells. *Am J Physiol* 1988;255:F590-F596.
- K22. Katona E. Very early effects of aminonucleoside on some rats liver enzymes. *Biochem Pharmacol* 1974;23:2199-2202.
- K23. Katz J, Bonorris G, Okuyama S, Sellers AL. Albumin synthesis in perfused liver of normal and nephrotic rats. *Am J Physiol* 1967;212:1255-1260.
- K24. Katz J, Rosenfeld S, Sellers AL. Role of the kidney in plasma albumin catabolism. *Am J Physiol* 1960;198:814-818.
- K26. Kawaguchi M, Yamada M, Okigaki T, Wada H, Okigaki T. Roles of active oxygen species in glomerular epithelial cells injury in vitro caused by puromycin aminonucleoside. *Toxicology* 1992;72:329-340.
- K28. Kaysen GA, Gambertoglio J, Jimenez I, Jones H, Hutchinson FN. Effects of dietary protein intake on albumin homeostasis in nephrotic patients. *Kidney Int* 1986;29:572-577.
- K30. Kaysen GA, Jones H, Martin V, Hutchinson FN. A low-protein diet restricts albumin synthesis in nephrotic rats. *J Clin Invest* 1989;83:1623-1629.
- K31. Kaysen GA, Myers BD, Couser WG, Rabkin R, Felts JM. Biology of disease. Mechanisms and consequences of proteinuria. *Lab Invest* 1986;54:479-498.
- K32. Kefalides NA. Structure and biosynthesis of basement membranes. *Int Rev Connect Tissue Res* 1973;6:63-104.

- K33. Kekki M, Nikkila EA. Plasma triglyceride metabolism in the adult nephrotic syndrome. *Eur J Clin Invest* 1971;1:345-351.
- K34. Kelley VE, Cavallo T. Glomerular permeability. Transfer of native ferritin in glomeruli with decreased anionic sites. *Lab Invest* 1978;39:547-553.
- K35. Kerjaschki D, Farquhar MG. The pathogenic antigen of Heymann nephritis is a membrane glycoprotein of the renal proximal tubule brush border. *Proc Natl Acad Sci USA* 1982; 79:5557-5561.
- K36. Kerjaschki D, Sawada H, Farquhar MG. Immunoelectron microscopy in kidney research: some contributions and limitations. *Kidney Int* 1986;30:229-245.
- K37. Kerjaschki D, Sharkey DJ, Farquhar MG. Identification and characterization of podocalyxin-the mayor sialoprotein of the renal glomerular epithelial cell. *J Cell Biol* 1984;98:1591-1596.
- K38. Kerjaschki D, Vernillo AT, Farquhar MG. Reduced sialylation of podocalyxin-the major sialoprotein of rat kidney glomerulus-in aminonucleoside nephrosis. *Am J Pathol* 1985;118:343-349.
- K39. Kerpen HO, Bhat JG, Kantor R, Gauthier B, Rai KR, Schacht RG, Baldwin DS. Lymphocyte subpopulations in minimal change nephrotic syndrome. *Clin Immunol Immunopathol* 1979;14:130-136.
- K40. Kessner DM, Borowsky BA, Recant L. Effect of 6-dimethylaminopurine-3-amino-D-ribose on adenosine triphosphate formation in yeast. *Proc Soc Exp Biol Med* 1958;98:766-770.
- K41. Khamise G, Vaziri ND, Oveisi F, Ahmadnia MR, Ahmadnia L. Vitamin D absorption, plasma concentration and urinary excretion of 25-hydroxyvitamin D in nephrotic syndrome. *Proc Soc Exp Biol Med* 1991;196:210-213.
- K42. Kinoshita Y, Hirasawa Y, Watabe C, Mikami A, Takashi G, Kido C, Ito G, Miyakawa T, Nakajima S, Osaka S, Kurita Y. Metabolic studies on nephrotic syndrome. I. Metabolic studies on aminonucleoside nephrosis in rat. *J Jap Soc Int Med* 1963;52:109-121.
- K46. Klein DJ, Brown DM, Oegema TR, Brenchley PE, Anderson JC, Dickinson MAJ, Horigan EA, Hassell JR. Glomerular basement membrane proteoglycans are derived from a large precursor. *J Cell Biol* 1988;106:963-970.
- K47. Klein DJ, Dehnel PJ, Oegema RT, Brown DM. Alterations in proteoglycan metabolism in the nephrotic syndrome induced by the aminonucleoside of puromycin. *Lab Invest* 1984;50:543-551.
- K48. Kleinknecht C, Broyer M, Gubler MC. Irreversible renal failure after indomethacin in steroid-resistant nephrosis. *N Engl J Med* 1980;302:691. (Carta)
- K49. Kleinman HK, McGarvey ML, Hassell JR, Martin GR. Formation of a supramolecular complex is involved in the reconstitution of basement membrane components. *Biochemistry* 1983;22:4969-4974.
- K50. Kleinman HK, Cannon FB, Laurie GW, Hassell JR, Aumailley M, Terranova VP, Martin GR, DuBois-Dalcq M. Biological activities of laminin. *J Cell Biochem* 1985;27:317-325.
- K51. Klett C, Muller F, Gierschik P, Hackenthal E. Angiotensin II stimulates angiotensinogen synthesis in hepatocytes by a pertussis toxin-sensitive mechanism. *FEBS Lett* 1990;259:301-304.
- K52. 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.
- K53. Kobayashi S, Oguri K, Kobayashi K, Okayama M. Isolation and characterization of proteoglycan sulfate synthesized in vitro by rat glomeruli. *J Biol Chem* 1983;258:12051-12057.
- K56. Kosower NS, Kosower EM. The glutathione status of cells. En: Bourne GH, Daniele JF, eds. *Cytology*. Vol.54. New York:Academic Press, 1978:109-160.
- K58. Krakower CS, Greenspon SA. The isolation of basement membranes. En: Kefalides NA, eds. *Biology and Chemistry of Basement Membranes*. New York:Academic Press, 1978:1
- K59. Krishna GG, Danovitch GM. Effects of water immersion and renal function in the nephrotic syndrome. *Kidney Int* 1982;21:395.
- K61. Kurkinen M, Barlow DP, Jenkins JR, Hogan BLM. In vitro synthesis of laminin and entactin polypeptides. *J Biol Chem* 1983;258:6543-6548.
- K64. Keizer HG, Pinedo HM, Schuurhuist GJ, Joenje H. Doxorubicin (Adriamycin): a critical review of free radical-dependent mechanisms of cytotoxicity. *Pharmac Ther* 1990;47:219-231.
- L1. Lagrue G, Xheneumont S, Branellec A, Weil B. Lymphokines and nephrotic syndrome. *Lancet* 1975;1:271-272.
- L3. Landwehr DM, Carvalito JS, Oken DE. Micropuncture studies of the filtration and absorption of albumin by nephrotic rats. *Kidney Int* 1977;11:9-17.
- L5. Lannigan R. The production of chronic renal disease in rats by a single intravenous injection of aminonucleoside of puromycin and the effect of low dosage continuous hydrocortisone. *Br J Exp Pathol* 1963;44:326-333.
- L6. Larsen S. Immunofluorescent microscopy findings in minimal or no changes disease and slight generalized mesangioproliferative glomerulonephritis. Fluorescent microscopy results correlated to symptoms and clinical cause. *Acta Pathol Microbiol Scand* 1978;86A:531-542.
- L7. Larsson L, Maunsbach AB. The ultrastructural development of the glomerular filtration barrier in the rat kidney: a morphometric analysis. *J Ultrastruct Res* 1980;72:392-406.
- L8. Latta H, Johnston WH, Stanley TM. Sialoglycoproteins and filtration barriers in the glomerular capillary wall. *J Ultrastruct Res* 1975;51:354-376.
- L9. Latta H, Johnston WH. The glycoprotein inner layer of glomerular capillary basement membrane as a filtration barrier. *J Ultrastruct Res* 1976;57:65-67.
- L10. Latta H, Maunsbach AB, Cook ML. Relations of the centrolobular region of the glomerulus to the juxtaglomerular apparatus. *J Ultrastruct Res* 1962;6:562-578.
- L11. Laurie CW, Kleinman HK, Hassel JR, Martin GR, Feldmann RJ. Basement membrane organizations suggested by combination of laminin and heparan sulfate proteoglycan binding sites with the "open network" and "polygonal" models of type IV collagen. *J Cell Biol* 1985;101:259, (Resumen).
- L12. Laurie GW, Leblond CP, Inoue S, Martin GR, Chung A. Fine structure of the glomerular basement membrane and immunolocalization of five basement membrane components to the lamina densa (basal lamina) and its extensions in both glomeruli and tubules of the rat kidney. *Am J Anat* 1984;169:463-481.
- L13. Ledbetter SR, Fisher LW, Hassell JR. Domain structure of the basement membrane heparan sulfate proteoglycan. *Biochemistry* 1987;26:988-995.

- L14. Lelongt B, Makino H, Kanwar YS. Status of glomerular proteoglycans in aminonucleoside nephrosis. *Kidney Int* 1987;31:1299-1310.
- L15. Lenarsky C, Jordan SC, Ladisch S. Plasma inhibition of lymphocyte proliferation in nephrotic syndrome. Correlation with hyperlipidemia. *J Clin Immunol* 1982;2:276-281.
- L17. Leninger AL. Principles of biochemistry. Anderson S, Fox J, eds. New York:Worth Publishers Inc. 1982:481.
- L18. Leninger AL. Principles of biochemistry. Anderson S, Fox J, eds. New York:Worth Publishers Inc. 1982:272,634,479.
- L19. Lerner RA, Dixon EJ. The induction of acute glomerulonephritis in rabbits with soluble antigens isolated from normal homologous and autologous urine. *J Immunol* 1968;100:1277-1287.
- L20. Lessard J, Pestka S. Studies on the formation of transfer ribonucleic acid-ribosome complexes. *J Biol Chem* 1972;247:6909-6912.
- L22. Lewandowski AE, Liao WSL, Stinson-Fisher A, Kent JD, Jefferson LS. Effects of experimentally induced nephrosis on protein synthesis in rat liver. *Am J Physiol* 1988;254:C634-C642.
- L23. Lewis EJ. Chlorambucil for childhood nephrotic syndrome. A word of caution. *N Engl J Med* 1980;302:963.
- L24. Lim P, Jacob E, Tock EPC, Pwee HS. Calcium and phosphorus metabolism in nephrotic syndrome. *Q J Med* 1977;46:327-338.
- L25. Lindahl U, Höök M. Glycosaminoglycans and their binding to biological macromolecules. *Ann Rev Biochem* 1978;47:385-417.
- L26. Llach F. Hypercoagulability, renal vein thrombosis, and another thrombotic complications of the nephrotic syndrome. *Kidney Int* 1985;28:429-439.
- M1. Maddox DA, Bennett CM, Deen WM, Glasscock RJ, Knutson D, Daugharty M, Brenner BM. Determinants of glomerular filtration in experimental glomerulonephritis in the rat. *J Clin Invest* 1975;55:305-318.
- M2. Madri JA, Roll FJ, Furthmayr H, Foidart JM. Ultrastructural localization of fibronectin and laminin in the basement membranes of the murine kidney. *J Cell Biol* 1980;86:682-687.
- M3. Mahan JD, Sisson-Ross S, Vernier RL. Glomerular basement membrane anionic charge site changes early in aminonucleoside nephrosis. *Am J Pathol* 1986;125:393-401.
- M4. Mainero A, Cruz C, Pedraza-Chaverri J. Serum and urinary ceruloplasmin in experimental nephrotic syndrome. *Clin Invest Med* 1992;15:295-300.
- M5. Makino H, Gibbons JT, Reddy MK, Kanwar YS. Nephritogenicity of antibodies to proteoglycans of the glomerular basement membrane. *I J Clin Invest* 1986;77:142-156.
- M6. Mallick NP, Short CD. The nephrotic syndrome and ischaemic heart disease. *Nephron* 1981;27:54-57.
- M8. Markowitz H, Gubler CJ, Mahoney JP, Cartwright GE, Wintrobe MM. Studies on copper metabolism. XIV. Copper, ceruloplasmin and oxidase activity in sera of normal human subjects, pregnant women, and patients with infection, hepatolenticular degeneration and the nephrotic syndrome. *J Clin Invest* 1955;34:1498-1508.
- M10. Marsh JB, Sparks CE. Hepatic secretion of lipoproteins in the rat and the effect of experimental nephrosis. *J Clin Invest* 1979;64:1229-1237.
- M11. Marsh JB, Sparks CE. Lipoproteins in experimental nephrosis. Plasma levels and

- composition. *Metabolism* 1979;28:1040-1045.
- M15. Marsh NA. The fibrinolytic enzyme system of the rat: the effect of aminonucleoside-induced nephrotic syndrome. *Br J Exp Pathol* 1969;50:1-12.
- M16. Marshall JF, Apostopoulos JJ, Brack CH M, Howlett GJ. Regulation of apolipoprotein gene expression and plasma high-density lipoprotein composition in experimental nephrosis. *Biochim Biophys Acta* 1990;1042:271-279.
- M17. Martínez-Hernández A, Amenta PS. The basement membrane in pathology. *Lab Invest* 1983;48:656-677.
- M18. Martínez-Hernandez A, Chung A. The ultrastructural localization of two basement membrane components -entactin and laminin- in rat tissues. *J Histochem Cytochem* 1984;32:289-298.
- M19. Masumoto A, Koga S, Uchida E, Ibayasni H. Effects of insulin, dexamethasone and glucagon on the production of apolipoprotein A-I in cultured rat hepatocytes. *Atherosclerosis* 1988;70:217-223.
- M20. Mayer M, Yedgar S, Joffe M, Shafrir E. Urine protease and antiprotease activity in experimental aminonucleoside nephrotoxicity. *Nephron* 1981;29:223-228.
- M21. Mazel P, Kerza-Kwiatecki A, Simanis JJ. Studies on the demethylation of puromycin and related compounds by liver microsomal enzymes. *Biochim Biophys Acta* 1966;114:72.
- M22. McCord JM, Stokes SH, Wong K. En: Weissman G, eds. *Advances in inflammation Research*. Vol I. New York:Raven Press, 1979:273.
- M23. McKenzie IFC, Nestel PJ. Studies on the turnover of triglyceride and esterified cholesterol in subjects with the nephrotic syndrome. *J Clin Invest* 1968;47:1685-1695.
- M24. McLean RH, Forsgren A, Björkstén B, Kim Y, Quie PG, Michael AF. Decreased serum factor B concentration associated with decreased opsonization of *Escherichia coli* in the idiopathic nephrotic syndrome. *Pediatr Res* 1977;11:910-916.
- M25. McMahon RE. Microsomal dealkylation of drugs. Substrate specificity and mechanism. *J Pharm Sci* 1966;55:457.
- M26. McVicar M, Exeni R, Susin M. Nephrotic syndrome and multiple tubular defects in children: an early sign of focal segmental glomerulosclerosis. *J Pediatr* 1980;97:918.
- M27. Meltzer JI, Keim HJ, Laragh JH, Sealey JE, Jan KM, Chien S. Nephrotic syndrome. Vasoconstriction and hypervolemia types indicated by renin-sodium profiling. *Ann Intern Med* 1979;91:688-696.
- M29. Menefee MC, Mueller CB, Bell AL, Meyers JK. Transport of globin by the renal glomerulus. *J Exp Med* 1964;120:1129-1138.
- M30. Metcalf J, Kaiser E, Sprago B. Correlation of ultrastructure and enzyme activities in kidneys of rats with aminonucleoside nephrosis. *Proc II. Int Congr Nephrol, Prague, 1963*:511-513.
- M31. Michael AF, Blau EB, Vernier RL. Glomerular polyanion: alteration in aminonucleoside nephrosis. *Lab Invest* 1970;23:649-657.
- M32. Michael AF, Fish AJ, Good RA. Glomerular localization and transport of aggregated proteins in mice. *Lab Invest* 1967;17:14-29.
- M35. Michael AF, Yang J, Falk RJ, Bennington MJ, Scheinman JI, Vernier RL, Fish AJ. Monoclonal antibodies to human renal basement membranes: heterogenic and ontogenic changes. *Kidney Int* 1983;24:74-86.

- M36. Michael AF. Experimental renal disease in monkeys. I. Aminonucleoside nephrosis. *Lab Invest* 1962;11:1266-1278.
- M37. Michels L D, Davidman M, Keane W F. Adriamycin nephrotic syndrome: glomerular hemodynamics and permselectivity. *Kidney Int* 1983;23:246.(Resumen).
- M39. Miller PL, Scholey JW, Rennke HG, Meyer TW. Glomerular hypertrophy aggravates epithelial cell injury in nephrotic rats. *J Clin Invest* 1990;85:1119-1126.
- M40. Minchin MA, Turner KJ, Bower GD. Lymphocyte blastogenesis in nephrotic syndrome. *Clin Exp Immunol* 1980;42:241-246.
- M41. Mohos SC, Skoza L. Glomerular sialoprotein. *Science* 1969;164:1519-1521.
- M42. Moore HW. Bioactivation as a model for drug design bioreductive alkylation. *Science* 1977;197:527-532.
- M44. Morris A, Favelukes S, Arlinghaus R, Schweet R. Mechanism of puromycin inhibition of hemoglobin synthesis. *Biochem Biophys Res Comm* 1962;7:326-330.
- M45. Moshage HJ, Haard HJW, Princen HMG, Yap SH. The influence of glucocorticoid on albumin synthesis and its messenger RNA in rat in vivo and in hepatocyte suspension culture. *Biochim Biophys Acta* 1985;824:27-33.
- M47. Muls E, Rosseneu M, Daneels R, Schurgers M, Boelaert J. Lipoprotein distribution and composition in the human nephrotic syndrome. *Atherosclerosis* 1985;54:225-237.
- M48. Murray RL. Alanine aminotransferase. En Pesce AJ, Kaplan LA, eds. *Methods in Clinical Chemistry*. St Louis: Mosby, 1987:1062-1065.
- M49. Musa BU, Seal US, Doe RP. Excretion of corticosteroid-binding globulin, thyroxine-binding globulin and total protein in adult males with nephrosis: effect of sex hormones. *J Clin Endocrinol* 1967;27:768-774.
- M50. Mynderse LA, Hassell JR, Kleinman HK, Martin GR, Martinez-Hernandez A. Loss of heparan sulfate proteoglycan from glomerular basement membrane of nephrotic rats. *Lab Invest* 1983;48:292-302.
- N1. Nagasawa HT, Alexander CS, Swingle KF. Inhibition of aminonucleoside nephrosis in rats. III. The lack of effect of hepatic drug-metabolizing enzyme inhibitors and stimulators on nephrotoxicity. *Toxicol Appl Pharmacol* 1967;11:336-345.
- N2. Nagasawa HT, Swingle KF, Alexander CS. Metabolism of aminonucleoside-8-¹⁴C in the rat and guinea pig. *Biochem Pharmacol* 1967;16:2211-2219.
- N3. Nagasawa HT. Identification and synthesis of the major nucleoside metabolite in rabbit urine after administration of puromycin aminonucleoside. *J Med Chem* 1972;15:177-181.
- N4. Nakamura T, Ebihara I, Mitsumine F, 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.
- N5. Nakamura T, Ebihara I, Shirato I, Tomino Y, Koide H. Modulation of basement membrane component gene expression in glomeruli of aminonucleoside nephrosis. *Lab Invest* 1991;64:640-647.
- N7. Nathans D, Neidle A. Structural requirements for puromycin inhibition of protein synthesis. *Nature* 1963;197:1076-1077.
- N8. Nathans D, Von Ehrenstein G, Monro R, Lipmann F. Protein synthesis from aminoacyl-soluble ribonucleic acid. *Fed Proc* 1962;21:127-133.
- N9. Nicholes BK, Krakower CA, Greenspon SA. The chemically isolated lamina densa of the

- renal glomerulus. *Proc Soc Exp Biol Med* 1973;142:1316-1321.
- N10. Nikkilä EA, Gräsbeck R. Heparin in lipid nephrosis: observations of the effects on edema, proteinuria, serum proteins, lipids and lipoproteins. *Acta Med Scand* 1954;150:39-46.
- N12. Nussenzweig I, Villela de Faria C, López de Faria J, Barros Magaldi J. Aminonucleoside induced nephrotic syndrome in human beings: report of five cases. *2nd Int Congress of Nephrol* 1964; *Excerpta Med. Found. Amsterdam*. pp 506-510.
- N13. Neugarten J, Kozin A, Cook K. Effect of indomethacin on glomerular permselectivity and hemodynamics in nephrotoxic serum nephritis. *Kidney Int* 1989;36:51-56.
- O1. O'Donnell MP, Michels L, Kasiske B, Rajj L, Keane WF. Adriamycin induced chronic proteinuria: a structural and functional study. *J Lab Clin Med* 1985;106:62-67.
- O2. Oberbäumer I, Laurent M, Schwarz U, Sakurai Y, Yamada Y, Vogeli G, Voss T, Siebold B, Glanville RW, Kühn K. Amino acid sequence of the non-collagenous globular domain (NCL) of the alpha-1(IV) chain of basement membrane collagen as derived from complementary DNA. *Eur J Biochem* 1985;147:217-224.
- O3. Oberbäumer I, Wiedmann H, Timpl R, Kühn K. Shape and assembly of type IV procollagen obtained from cell culture. *EMBO J* 1982;1:805-810.
- O4. Oegema TR, Laidlaw J, Hascall VC, Dziewiatkowski DD. The effect of proteoglycans on the formation of fibrils from collagen solutions. *Arch Biochem Biophys* 1975;170:698-709.
- O7. Oliver WJ, Kelsch RC, Chandler JP. Demonstration of increased catecholamine excretion in the nephrotic syndrome. *Proc Soc Exp Biol Med* 1967;125:1176-1180.
- O10. Olson JL, Rennke HG, Venkatachalam MA. Alteration in the charge and size selectivity barrier of the glomerular filter in aminonucleoside nephrosis. *Lab Invest* 1981;44:271-279.
- O12. Orci L, Singh A, Amherdt M, Brown D, Perrelet A. Microheterogeneity of protein and sterol content in kidney podocyte membrane. *Nature* 1981;293:646-647.
- O13. Oetliker OH, Mordasini R, Lüschtg, Riesen W. Lipoprotein metabolism in nephrotic syndrome in childhood. *Pediatr Res* 1980;14:64-66.
- P1. Pappenheimer JR, Renkin EM, Borrero LM. Filtration, diffusion and molecular sieving through peripheral capillary membranes: a contribution to the pore theory of capillary permeability. *Am J Physiol* 1951;167:13-46.
- P2. Pappenheimer JR. Passage of molecules through capillary walls. *Physiol Rev* 1953;33:387-423.
- P3. Park CH, Maack T. Albumin absorption and catabolism by isolated perfused proximal convoluted tubules of the rabbit. *J Clin Invest* 1984;73:767-778.
- P4. Parthasarathy N, Spiro RG. Characterization of the glycosaminoglycan component of the renal glomerular basement membrane and its relationship to the peptide portion. *J Biol Chem* 1981;256:507-513.
- P5. Parthasarathy N, Spiro RG. Isolation and characterization of the heparan-sulfate proteoglycan of the bovine glomerular basement membrane. *J Biol Chem* 1984;259:12749-12755.
- P6. Paulsson M, Deutzmann R, Dziadek M, Nowack H, Timpl R, Weber S, Engel J. Purification and structural characterization of intact and fragmented nidogen obtained from a tumor basement membrane. *Eur J Biochem* 1986;156:467-478.
- P8. Pedraza-Chaverri J, Cruz C, Chávez MT, López A, Ibarra-Rubio ME, Tapia E, Peña JC. Pathophysiology of experimental nephrotic syndrome induced by puromycin

- aminonucleoside in rats. II. In vitro release of renin, angiotensinogen and aldosterone. *Rev Invest Clin* 1990;42:120-126.
- P9. Pedraza-Chaverri J, Cruz C, Chavez MT, Ibarra-Rubio ME, Tapia E, Peña JC. Pathophysiology of experimental nephrotic syndrome induced by puromycin aminonucleoside in rats. III. effect of captopril, an angiotensin converting enzyme inhibitor, on proteinuria and sodium retention. *Rev Invest Clin* 1990;42:210-216.
- P10. Pedraza-Chaverri J, Cruz C, Ibarra-Rubio ME, Chavez MT, Calleja C, Tapia E, Uribe MC, Romero L, Peña JC. Pathophysiology of experimental nephrotic syndrome induced by puromycin aminonucleoside in rats. I. The role of proteinuria, hypoproteinemia, and renin-angiotensin-aldosterone system on sodium retention. *Rev Invest Clin* 1990;42:29-38.
- P11. Pedraza-Chaverri J, Cruz C, Ibarra-Rubio ME, Hernández C, Tapia E, Peña JC. Urinary excretion of renin and angiotensinogen in nephrotic rats. *Nephron* 1991;57:106-108.
- P12. Pedraza-Chaverri J, Cruz C, Sandoval AA, Tapia E, Peña JC. Effect of captopril on urinary excretion of renin and angiotensinogen in aminonucleoside nephrosis. *Ren Fail* 1992; 14:155-159.
- P13. Pedraza-Chaverri J, Cruz C, Tapia E, Peña JC. Activity of serum enzymes in puromycin aminonucleoside-induced nephrotic syndrome. *Ren Fail* 1992;14:523-531.
- P15. Pedraza-Chaverri J, Huberman A. Actinomycin D blocks the hepatic functional albumin mRNA increase in aminonucleoside-nephrotic rats. *Nephron* 1991;59:648-650.
- P16. Pedraza-Chaverri J, Ibarra-Rubio ME, Cruz C, Tapia E. Mensajeros intracelulares en la regulación de la secreción de renina. *Rev Invest Clin* 1989;41:165-176.
- P17. Perico N, Delaini F, Lupini C, Remuzzi G. Renal response to atrial peptides is reduced in experimental nephrosis. *Am J Physiol* 1987;252:F654-F660.
- P18. Peterson PA, Berggard I. Urinary immunoglobulin components in normal, tubular, and glomerular proteinuria: quantities and characteristics of free light chains, IgG, IgA and Fcy fragment. *Eur J Clin Invest* 1971;1:255.
- P19. Philips FS, Gilladoga A, Marquardt H, Sternberg SS, Vidal PM. Some observations on the toxicity of adriamycin (NSC-123127). *Cancer Chemother Rep* 1975;6:177-181.
- P20. Pine SH, Hendrickson JB, Cram DJ, Hammond GS. Radicales libres. En: Pine, Hendrickson, Cram, Hammond, eds. *Química Orgánica*. México:Mc Graw-Hill, 1987:928.
- P21. Plückthun H, Schreier K, Hauss H. Untersuchungen zur pathologie des eiweiss. Stoffwechsels beim nephrotischen syndrom. *Klin Wschr* 1953;31:558.
- P22. Ponticelli C, Zuchelli P, Imbascati E, Cagnoli L, Pozzi C, Passerini P, Grassi C, Limido D, Pasquali S, Volpini T, Sasdelli M, Locatelli F. Controlled trial for methylprednisolone and chlorambucil in idiopathic membranous nephropathy. *N Engl J Med* 1984;310:946-950.
- P24. Poggi A, Kornblihtt L, Delaini F, Colombo T, Mussoni L, Reyers I, Donati M B. Delayed hypercoagulability after a single dose of adriamycin to normal rats. *Thromb Res* 1979;16:639-650.
- P26. Porter JN, Hewitt RI, Hesselstine CW, Krupka G, Lowery JA, Wallace WS, Bohonos N, Williams JH. Achromycin: a new antibiotic having trypanocidal properties. *Antibiotics and Chemotherapy* 1952;2:409-410.
- P31. Price RG, Spiro RD. Studies on the metabolism of the renal glomerular basement

- membrane. *J Biol Chem* 1977;252:8597-8602.
- P32. Pullinger CR, de Brito AER, Rifici VA, Medina P, Teng B, Scott J. Effects of albumin on Apo-B mRNA levels on the secretion of triglyceride-rich lipoprotein by HepG2 cells. *X Int Cong Nephrol* 1987:514.
- P33. Pullman TN, Alving AS, Dern RJ, Landowne M. The influence of dietary protein intake on specific renal functions in normal man. *J Lab Clin Med* 1954;44:320-332.
- P34. Purtell JN, Pesce AJ, Clyne DH, Miller WC, Pollak VE. Isoelectric point of albumin: Effect on renal handling of albumin. *Kidney Int* 1979;16:366-376.
- P35. Paulsson M, Dziadek M, Suchanek C, Huttner WB, Timpl R. Nature of sulfated macromolecules in mouse Reichert's membrane. Evidence for tyrosin-O-sulfate in basement membrane proteins. *Biochem J* 1985;231:571-579.
- P36. Panduro A, Castrillón L, Vargas F, Ibarra-Rubio ME. Regulation of apolipoprotein A-I and E gene expression in liver and intestine of nephrotic and pair-fed rats. *Nephron* 1993;65:100-107.
- P37. Pedraza-Chaverri J, Torres-Rodríguez A, Cruz C, Mainero A, Tapia E, Ibarra-Rubio ME, Silencio JL. Cooper and zinc metabolism in aminonucleoside-induced nephrotic syndrome. *Nephron* 1994;66:87-92.
- R1. Rabinovitz M, Fisher JM. A dissociative effect of puromycin on the pathway of protein synthesis by Ehrlich ascites tumor cells. *J Biol Chem* 1962;237:477-481.
- R3. Rada JA, Carlson EC. Anionic site and immunogold quantitation of heparan sulfate proteoglycans in glomerular basement membranes of puromycin aminonucleoside nephrotic rats. *Anat Rec* 1991;231:35-47.
- R5. Raleigh JA, Kremers W. DMSO does not protect against hydroxyl radical induced permeability in model membranes. *Int J Radiat Biol* 1981;39:441-444.
- R6. Rambourg A, Leblond CP. Electron microscope observations on the carbohydrate rich cell coat present at the surface of cells in the rat. *J Cell Biol* 1967;32:27-53.
- R8. Reeves WH, Kanwar YS, Farquhar MG. Assembly of the filtration surface. Differentiation of anionic sites in glomerular capillaries of newborn rat kidney. *J Cell Biol* 1980;85:735-753.
- R9. Rehan AR, Johnson KJ, Wiggins RC, Kunkel RG, Ward PA. Evidence for the role of oxygen radicals in acute nephrotoxic nephritis. *Lab Invest* 1984;51:396-403.
- R10. Reimold EW. Changes in zinc metabolism during the course of the nephrotic syndrome. *Am J Dis Child* 1980;134:46-50.
- R11. Remuzzi A, Battaglia C, Rossi L, Zoja C, Remuzzi G. Glomerular size selectivity in nephrotic rats exposed to diets with different protein content. *Am J Physiol* 1987;253:F318-F327.
- R12. Remuzzi G, Zoja C, Remuzzi A, Rossini M, Battaglia C, Brogгинi M, Bertani T. Low-protein diet prevents glomerular damage in adriamycin-treated rats. *Kidney Int* 1985;28:21-27.
- R13. Renkin EM, Gilmore JP. Glomerular filtration. En: Orloff J, Berliner RW, eds. *Handbook of physiology* sect 8, Renal Physiology, Washington,DC:Am Physiol Soc 1973:185-248.
- R14. Renkin EM, Robinson RR. Glomerular filtration. *N Engl J Med* 1974;299:785-792.
- R15. Rennke HG, Cotran RS, Venkatachalam MA. Role of molecular charge in glomerular permeability. Tracer studies with cationized ferritins. *J Cell Biol* 1975;67:638-646.

- R16. Rennke HG, Olson JL, Venkatachalam MA. Glomerular filtration of macromolecules: normal mechanisms and the pathogenesis of proteinuria. *Contr Nephrol* 1981;24:30-41.
- R17. Rennke HG, Patel Y, Venkatachalam MA. Effect of molecular charge on glomerular permeability to proteins in the rat: clearance studies using neutral, anionic and cationic horseradish peroxidase. *Kidney Int* 1978;13:278-288.
- R18. Rennke HG, Patel Y, Venkatachalam MA. Glomerular filtration of proteins: clearance of anionic, neutral and cationic horseradish peroxidase in the rat. *Kidney Int* 1978;13:278-288.
- R19. Rennke HG, Venkatachalam MA, Patel Y. Glomerular permeability of macromolecules: effect of molecular configuration on the fractional clearance of uncharged dextran and neutral horseradish peroxidase in the rat. *J Clin Invest* 1979;63:713-717.
- R20. Rennke HG, Venkatachalam MA. Glomerular permeability: in vivo tracer studies with polyanionic and polycationic ferritins. *Kidney Int* 1977;11:44-53.
- R21. Revert Torrellas L. Glomerulonefritis membranosa. En: Martínez-Maldonado M, Rodicio JL, eds. *Tratado de Nefrología*. México: Editorial Salvat; 1982;713-755.
- R22. Risteli J, Bachinger HP, Furthmayer H, Engel J, Timpl R. 7-S collagen: characterization of an unusual basement membrane structure. *Eur J Biochem* 1980;108:239-250.
- R24. Robson AM, Giangiacomo J, Keinstra RA, Naqvi ST, Ingelfinger JR. Normal glomerular permeability and its modification by minimal change nephrotic syndrome. *J Clin Invest* 1974;54:1190-1199.
- R25. Rodewald R, Karnovsky MJ. Porous substructure of the glomerular slit diaphragm in the rat and mouse. *J Cell Biol* 1974;60:423-433.
- R26. Roll FJ, Madri JA, Albert J, Furthmayr H. Codistribution of collagentypes IV and AB₂ in basement membranes and mesangium of the kidney. An immunoferritin study of ultrathin frozen sections. *J Cell Biol* 1980;85:597-616.
- R27. Rose GM, Cole BR, Robson AJ. The treatment of severe glomerulopathies in children using high dose intravenous methylprednisolone pulses. *Am J Kidney Dis* 1981;1:148-156.
- R28. Rosen GM, Freeman BA. Detection of superoxide generated by endothelial cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 1984;81:7269-7273.
- R31. Rosenzweig LJ, Kanwar YS. Removal of sulfated (heparan sulfate) or nonsulfated (hyaluronic acid) glycosaminoglycans results in increased permeability of the glomerular basement membrane to ¹²⁵I-bovine serum albumin. *Lab Invest* 1982;47:177-184.
- R32. Rosman JB, Ter Wee PM, Meijer S, Pieirs-Becht M, Sluiter WJ, Donker AJM. Prospective randomised trial of early dietary protein restriction in chronic renal failure. *Lancet* 1984;2:1291-1295.
- R33. Roth J, Brown D, Orci L. Regional distribution of N-acetyl-D-galactosamine residues in the glycocalyx of glomerular podocytes. *J Cell Biol* 1983;96:1189-1196.
- R35. Rothschild MA, Oratz M, Schreiber SS. Albumin synthesis. *Engl J Med* 1972;286:748-757.
- R36. Rothschild MA, Oratz M, Wimer E, Schreiber SS. Studies on albumin synthesis: The effects of dextran and cortisone on albumin metabolism in rabbits studied with albumin-I¹³¹. *J Clin Invest* 1961;40:545-554.
- R37. Ryan GB, Hein SJ, Karnovsky MJ. The distribution of albumin and immunoglobulin G in the glomerular capillary wall in aminonucleoside nephrosis. *Pathology* 1978;10:335-341.
- R38. Ryan GB, Karnovsky MJ. An ultrastructural study of the mechanisms of proteinuria in

- aminonucleoside nephrosis. *Kidney Int* 1975;8:219-232.
- S2. Sanders E, Coles GA, Davies M. Lysosomal enzymes in human urine: evidence for polymorphonuclear leucocyte proteinase involvement in the pathogenesis of human glomerulonephritis. *Clin Sci* 1978;54:667-672.
- S3. Sariola H, Kuusela P, Ekblom P. Cellular origin of fibronectin in interspecies hybrid kidneys. *J Cell Biol* 1984; 99:2099-2107.
- S4. Sariola H, Timpl R, Von Der Mark K, Mayne R, Fitch JM, Linsenmayer TF, Ekblom P. Dual origin of glomerular basement membrane. *Devel Biol* 1984;101:86-96.
- S6. Sawada H, Stukenbrok H, Kerjaschki D, Farquhar MG. Epithelial polyanion (podocalyxin) is found on the sides but not the soles of the foot processes of the glomerular epithelium. *Am J Pathol* 1986;125:309-318.
- S11. Schieppati A, Dodesini P, Benigni A, Massaza M, Mecca G, Remuzzi G, Livio M, DeGaetano G, Rossi EC. The metabolism of arachidonic acid by platelets in nephrotic syndrome. *Kidney Int* 1984;25:671-676.
- S12. Schmidt-Gayk H, Schmitt W, Grawunder C, Ritz E, Tschöpe W, Pietsch V, Andrassy K. 25-hydroxy-vitamin D in nephrotic syndrome. *Lancet* 1977;2:105-108.
- S13. Schnaper HW, Robson AM. Nephrotic syndrome: minimal change disease, focal glomerulosclerosis, and related disorders. En: Schrier RW, Gottschalk CW, eds. *Diseases of the Kidney, The Nephrotic syndrome*. Vol II, Boston/Toronto: Little Brown, 1988:1949-2004.
- S15. Schreier K, Sattelberg HG. Der Einfluss von adrenocorticotropem hormon (ACTH) auf den aminosäuren-stoffwechsel. *Klin Wschr* 1951;29:672.
- S16. Schultze G, Ahuja S, Faber U, Molzahn M. Gastrointestinal protein loss in the nephrotic syndrome studied with ⁵¹Cr-albumin. *Nephron* 1980;25:227-230.
- S17. Schurer JW, Kalicharan D, Hoedemaeker PHJ, Molenaar I. The use of polyethyleneimine for demonstration of anionic sites in basement membranes and collagen fibrils. *J Histochem Cytochem* 1978;26:688-689.
- S20. Scott T, Egelson M. *Concise Encyclopedia of Biochemistry*. Berlin, Walter de Gruyter, 1988.
- S23. Seney FD Jr, Wright FS. Dietary protein suppresses feedback control of glomerular filtration in rats. *J Clin Invest* 1985;75:558-568.
- S27. Shafirir E, Levy E, Deckelbaum R. Urinary excretion of apolipoproteins bound to HDL-like particles in rat nephrotic syndrome and their relation to plasma HDL. *Nephron* 1990; 56:24-29.
- S29. Shakib F, Hardwicke J, Stanworth DR, White RHR. Asymmetric depression in the serum level of IgG subclasses in patients with nephrotic syndrome. *Clin Expe Immunol* 1977;28:506-511.
- S30. Shaloub RJ. Pathogenesis of lipid nephrosis. A disorder of T-cell function. *Lancet* 1974;2:556-559.
- S31. Shapiro MD, Nicholls KM, Groves BM, Schrier RW. Role of glomerular filtration rate in the impaired sodium and water excretion of patients with the nephrotic syndrome. *Am J Kidney Dis* 1986;8:81-87.
- S34. Shibouta Y, Terashita ZI, Imura Y, Shino A, Kawamura M, Ohtsuki K, Ohkawa S, Nishikawa K, Fujiwara Y. Involvement of thromboxane A₂, leukotrienes and free radicals

- in puromycin nephrosis in rats. *Kidney Int* 1991;39:920-929.
- S35. Short CD, Durrington PN, Mallick NP, Hunt LP, Tetlow L, Ishola M. Serum and urinary high density lipoproteins in glomerular disease with proteinuria. *Kidney Int* 1986; 29:1224-1228.
- S36. Shreeve WW, Hutchin ME, Harper HA, Miller CH D, Doolan PD. Excretion of amino acids in nephrosis (21635). *Proc Soc Exp Biol Med* 1955;88:510-514.
- S37. Silva Fred G, Hogg Ronald J. Minimal change nephrotic Syndrome-focal Sclerosis Complex (Including IgM Nephropathy and Diffuse Mesangial Hypercellularity). En: C.Craig Tisher C, Barry M Brenner,eds. *Renal Pathology*. Philadelphia: J.B. Lippincott Co, 1989:265-339.
- S39. Sinha BK, Gregory LJ. Role of one electron and two electron reduction products of adriamycin and daunomycin in deoxyribonucleic acid binding. *Biochem Pharmacol* 1981;30: 2626-2629.
- S40. Sinha BK, Trush MA, Kennedy KA, Mimnaugh EG. Enzymatic activation and binding of adriamycin to nuclear DNA. *Cancer Res* 1984;44:2892-2896.
- S41. Slater R, Kretschmer N, MacNamara H, Barnett HL. Protein metabolism in nephrosis. Studies on proteinuria. *Am J Dis Child* 1955;90:611-612.
- S42. Sobel AT, Branellec AI, Blanc CJ, Lagrue GA. Physicochemical characterization of a vascular permeability factor produced by Con A-stimulated human lymphocytes. *J Immunol* 1977;119:1230-1234.
- S44. Soose M, Haberstroh U, Rovira-Halbach G, Brunkhorst R, Stolte H. Heterogeneity of glomerular barrier function in early adriamycin nephrosis of MWF rats. *Clin Physiol Biochem* 1988;6:310-315.
- S45. Sparks CE, Tennenberg SD, Marsh JB. Catabolism of the apolipoproteins of HDL in control and nephrotic rats. *Biochim Biophys Acta* 1981;665:8-12.
- S46. Spear GS, Nguyen D, Conklin S, Wikle JS, Fan J, Lan Y, Allen J. DMSO potentiates aminonucleoside of puromycin nephrosis in rats. *J Pathol* 1987;153:183-187.
- S47. Squire JR. The nephrotic syndrome. *Br Med J* 1953;2:1389.
- S49. Stanbury SW, Macaulay D. Defects of renal tubular function in the nephrotic syndrome. *Q J Med* 1957;26:7-30.
- S50. Staprans I, Anderson CD, Lurz FW, Felts JM. Separation of a lipoprotein lipase co-factor from the α_1 -acid glycoprotein fraction from the urine of nephrotic patients. *Biochim Biophys Acta* 1980;617:514-532.
- S51. Staprans I, Felts JM. The composition of urinary proteins from patients with the nephrotic syndrome. *Circulation* 1976; 54:165,(Resumen).
- S53. Steblay RW, Rudofsky U. In vitro and in vivo properties of autoantibodies eluted from kidneys of sheep with autoimmune glomerulonephritis. *Nature* 1968;218:1269-1271.
- S54. Stec J, Podracka, Pavkovicckova O, Kollar J. Zinc and copper metabolism in nephrotic syndrome. *Nephron* 1990;56:186-187.
- S55. Sternberg SS, Philips FS. Biphasic intoxication and nephrotic syndrome in rats given daunomycin. *Proc Am Assoc Cancer Res* 1967;8:64,(Resumen).
- S56. Stickler GB, Hayles AB, Power MH, Ulrich JA. Renal tubular dysfunction complicating the nephrotic syndrome. *Pediatrics* 1960;26:75-85.
- S58. Stow JL, Glasgow EF, Handley CF, Hascall VC. Biosynthesis of proteoglycans by isolated

- rabbit glomeruli. *Arch Biochem Biophys* 1983;225:950-957.
- S59. Stow JL, Sawada H, Farquhar MG. Basement membrane heparan sulfate proteoglycans are concentrated in the laminae rarae and in podocytes of the rat renal glomerulus. *Proc Natl Acad Sci USA* 1985;82:3296-3300.
- S61. Striker GE, Killen PD, Farin FM. Human glomerular cells in vitro: isolation and characterization. *Transplant Proc* 12, Suppl 1980;1:88-89.
- S62. Sugioka K, Nakano M. Mechanism of phospholipid peroxidation induced by ferric ion-ADP-adriamycin-co-ordination complex. *Biochim Biophys Acta* 1982;713:333-343.
- S63. Stahl RAK, Adler S, Baker PJ, et al. Enhanced glomerular prostaglandin formation in experimental membranous glomerulopathy. *Lab Invest* 1987;31:1126-1131.
- T1. Tall AR, Small DM. Plasma high density lipoproteins. *N Engl J Med* 1978;299:1232-1236.
- T2. Tarugi P, Calandra S, Chan L. Changes in apolipoprotein A-1 mRNA level in the liver of rats with experimental nephrotic syndrome. *Biochim Biophys Acta* 1986;868:51-61.
- T4. Tejani A, Butt K, Khawar R. Cyclosporin induced remission of relapsing nephrotic syndrome in children. *Kidney Int* 1986;29:206,(Resumen).
- T5. Thakur V, Walker PD, Shah SV. Evidence suggesting a role for hydroxyl radical in puromycin aminonucleoside-induced proteinuria. *Kidney Int* 1988;34:494-499.
- T6. Thomas EM, Rosenblum AH, Lander HB, Fisher R. Relationship between blood lipid and blood protein levels in the nephrotic syndrome. *Am J Dis Child* 1951;81:207-214.
- T8. Tiggeler RGWL, Hulme B, Wijdeveld PGAB. Effect of indomethacin on glomerular permeability in the nephrotic syndrome. *Kidney Int* 1979;16:312-321.
- T9. Timpl R, Dziadek M. Structure, development, and molecular pathology of basement membranes. *Int Rev Exp Pathol* 1986;29:1-112.
- T10. Timpl R, Fujiwara S, Dziadek M, Aumailley M, Weber S, Engel J. Laminin, proteoglycan, nidogen and collagen IV: structural models and molecular interactions. En: *Basement membranes and cell movement*. Ciba Found Symp 108. London: Pitman Publishing, Ltd, 1984:25-43.
- T11. Timpl R, Rohde H, Gehron Robey P, Rennard SI, Foidart JM, Martin GR. Laminin -a glycoprotein from basement membranes. *J Biol Chem* 1979;254:9933-9937.
- T12. Timpl R, Wiedemann H, Van Delden V, Furthmayr H, Kühn K. A network model for the organization of type IV collagen molecules in basement membranes. *Eur J Biochem* 1981;120:203-211.
- T13. Trüeb B, Gröbli B, Spiess M, Odermatt BF, Winterhalter KH. Basement membrane (type IV) collagen is a heteropolymer. *J Biol Chem* 1982;257:5239-5245.
- T14. Trachtman H, Zavilowitz B, Bennet B, Goldsmith DI. The effect of captopril on urinary protein excretion in puromycin aminonucleoside nephrosis in rats. *Pediatr Res* 1985;19:828-834.
- T15. Troy W, Smith S, Personeus G, Moser L, James E, Sparks SJ, Stevens M, Halliday S, McKenzie D, Oleson JJ. The effect of puromycin on experimental tumors, in: *Antibiot Ann 1953-1954*;186-190, proceedings of the symposium on antibiotics 1953, New York, medical encyclopedia, Inc;1953:186-190.
- T16. Tsuji A, Matsuda Y, Katunuma N. Characterization of human serum gamma-glutamyltranspeptidase. *Clin Chim Acta* 1980;104:361-366.

- T18. Turner MJ, Everman DB, Ellington SP, Fields CE. Detection of free radicals during the cellular metabolism of adriamycin. *Free Radical Biol Med* 1990;9:415-421.
- T19. Turner MJ, Rosen GM. Spin trapping of superoxide and hydroxyl radicals with substituted pyrroline-1-oxides. *J Med Chem* 1986;29:2439-2444.
- T20. Toole BP. Binding and precipitation of soluble collagens by chick embryo cartilage proteoglycan. *J Biol Chem* 1976;251:895-897.(Comunicación).
- T21. Timpl R, Oberbäumer I, Furthmayr H, Kuehn K. Macromolecular organization of type IV collagen. En: Kuehn K, Schoene H, Timpl R, eds. *New Trends in Basement Membrane Research*. New York:Raven Press, 1982;57-67.
- T22. Timpl R. Recent advances in the biochemistry of glomerular basement membrane. *Kidney Int* 1986;30:293-298.
- U1. Usberti M, Federico S, Meccariello S, Cianciaruso B, Balletta M, Pecoraro C, Sacca L, Ungaro B, Pisanti N, Andreucci VE. Role of plasma vasopressin in the impairment of water excretion in nephrotic syndrome. *Kidney Int* 1984;25:422-429.
- V2. Van Liew JB, Noble B, Brentjens JR. Absence of sodium and water in rats with severe proteinuria. *Nephron* 1985;40:476-481.
- V3. Vehaskari VM, Root ER, Germuth FG, Robson AM. Glomerular charge and urinary protein excretion: effects of systemic and intrarenal polycation infusion in the rat. *Kidney Int* 1982;22:127-135.
- V4. Velhote VW, Fujihara C, Marcondes M. Atrial natriuretic factor and generalized edema in rats. *Braz J Med Biol Res* 1985;18:481-485.
- V5. Venkatachalam MA, Cotran RS, Karnovsky MJ. An ultrastructural study of glomerular permeability in aminonucleoside nephrosis using catalase as a tracer protein. *J Exp Med* 1970;132:1168-1180.
- V6. Venkatachalam MA, Karnovsky MJ, Fahimi HD, Cotran RS. An ultrastructural study of glomerular permeability using catalasa and peroxidase as tracer proteins. *J Exp Med* 1970;132:1153-1167.
- V7. Venkatachalam MA, Rennke HG. The structural and molecular basis of glomerular filtration. *Circ Res* 1969;43:3337-347.
- V8. Vernier RL, Birch-Andersen. Studies of the human fetal kidney. II. Permeability characteristics of the developing glomerulus. *J Ultrastruct Res* 1963;8:66-88.
- V9. Vernier RL, Papermaster BW, Good RA. Aminonucleoside nephrosis. I. Electron microscopic study of the renal lesion in rats. *J Exp Med* 1959;109:115-126.
- V10. Vleet JF Van, Ferrans VF. Clinical and pathologic features of chronic adriamycin toxicosis in rabbits. *Am J Vet Res* 1980;42:1462-1469.
- V11. Vallotton MB. The renin-angiotensin system. *Trends in Pharmacological Science* 1987;8:69-72.
- W1. Wachstein M, Lange K. Histochemistry of experimental nephritis and nephrosis with and without cortisone treatment. *A.M.A. J Dis Child* 1957;94:505,(Resumen).
- W2. Waldmann TA, Strober W, Mogielnicki RP. The renal handling of low molecular weight proteins. II. Disorders of serum protein catabolism in patients with tubular proteinuria, the nephrotic syndrome or uremia. *J Clin Invest* 1972;51:2162-2174.
- W3. Walker F. The origin, turnover, and removal of glomerular basement membrane. *J Pathol* 1973;110:233-244.

- W5. Warburton MJ, Monaghan P, Ferns SA, Rudland PS, Perusinghe N, Chung AE. Distribution of entactin in the basement membrane of the rat mammary gland. *Exp Cell Res* 1984;152:240-254.
- W6. Warren JV, Merrill AJ, Stead EA Jr. Role of extracellular fluid in maintenance of normal plasma volume. *J Clin Invest* 1943;22:635-641.
- W7. Warshaw BL, Check IJ, Hymes LC, DiRusso SC. Decreased serum transferrin concentration in children with nephrotic syndrome. Effect on lymphocyte proliferation and correlation with serum immunoglobulin levels. *Clin Immunol Immunopathol* 1984;33:210-219.
- W8. Warwick GL, Caslake MJ, Boulton-Jones JM, Dagen M, Packard CH J, Shepherd J. Low-density lipoprotein metabolism in the nephrotic syndrome. *Metabolism* 1990;39:187-192.
- W9. Wass V, Cameron JS. Cardiovascular disease and the nephrotic syndrome: the other side of the coin. *Nephron* 1981;27:58-61.
- W10. Webb DB, Mackenzie R, Zoob SN, Rees AJ. Evidence against a role for superoxide ions in the injury of nephrotoxic nephritis in rats. *Clin Sci* 1985;69:687-689.
- W11. Weber S, Engel J, Wiedemann H, Glanville RW, Timpl R. Subunit structure and assembly of the globular domain of basement membrane collagen type IV. *Eur J Biochem* 1984;139:401-410.
- W12. Weening JJ, Beukers JJB, Grond J, Elema JD. Genetic factors in focal segmental glomerulosclerosis. *Kidney Int* 1986;29:789-798.
- W13. Weening JJ, Renke HG. Glomerular permeability and polyanion in adriamycin nephrosis in the rat. *Kidney Int* 1983;24:152-159.
- W14. Weiss SJ. Oxygen, ischemia and inflammation. *Acta Physiol Scand* 1986;548:9-37.
- W15. West TW, Fox JW, Jodlowski M, Freytag JW, Hudson BG. Bovine glomerular basement membrane. Properties of the collagenous domain. *J Biol Chem* 1980;255:10451-10459.
- W16. Wetzels JFM, Gerlag PGG, Sluiter HE, Hoitsma AJ, Koene RAP. Prednisone-induced fluctuations of proteinuria in patients with a nephrotic syndrome. *Nephron* 1986;44:344-350.
- W17. Whiteside C, Prutis R, Cameron R, Thompson J. Glomerular epithelial detachment, not reduced charge density, correlates with proteinuria in adriamycin and puromycin nephrosis. *Lab Invest* 1989;61:650-660.
- W19. Williams SA, Makker SP, Ingelfinger JR, Grupe WE. Long-term evaluation of clorambucil plus prednisone in the idiopathic nephrotic syndrome of childhood. *N Engl J Med* 1980;302:929-933.
- W20. Wilson SGF, Hackel DB, Horwood S, Nash G, Heymann W. Aminonucleoside nephrosis in rats. *Pediatrics* 1958;21:963-973.
- W21. Wilson SGF, Heymann W, Goldthwait DA. Studies on the mechanism of production of a nephrotic syndrome in rats by a nucleoside. *Pediatrics* 1960;25:228-241.
- W22. Winetz JA, Robertson CR, Golbetz H, Carrie BJ, Solyer WR, Myers BD. The nature of the glomerular injury in minimal change and focal sclerosing glomerulopathies. *Am J Kidney Dis* 1981;1:91.
- W23. Woodley DT, Rao CN, Hassell JR, Liotta LA, Martin GR, Kleinman HK. Interactions of basement membrane components. *Biochem Biophys Acta* 1983;761:278-283.
- W24. Woolf LI, Giles H McC. Urinary excretion of amino acids and sugar in the nephrotic

- syndrome. *Acta Paediatrica* 1956;45:489-500.
- W25. Wright JC, Dolgopol V, Logan M, Prigot A, Wright LT. Clinical evaluation of puromycin in human neoplastic disease. *Arch Intern Med* 1955;96:61-77.
- Y3. Yamauchi H, Cheu D, Rooney P, Hopper J. Renal lesions induced by aminonucleoside in dogs. *Arch Pathol* 1964;77:20-26.
- Y4. Yamauchi H, Hopper J Jr, McCormack K. Blood volume and fainting in nephrosis. *Clin Res* 1960;8:195,(Resumen).
- Y5. Yedgar S, Eilam O, Shafrir E. Regulation of plasma lipid levels by plasma viscosity in nephrotic rats. *Am J Physiol* 1985;248:E10-E14.
- Y6. Yoshida T, Metcoff J. Metabolic basis of aminonucleoside nephrosis in rats. II. Inhibition of renal gluconeogenesis by aminonucleoside. *J Lab Clin Med* 1968;72:576-581.
- Y7. Yoshida T, Yamashita F, Metcoff J. Metabolic basis of aminonucleoside nephrosis in the rats. I. Inhibition of α -oxoglutarate oxidation by aminonucleoside. *J Lab Clin Med* 1968;72:565-575.
- Y8. Young DM. Pathologic effects of adriamycin (NSC-123127) in experimental systems. *Cancer Chemother Rep* 1975;6:159-175.
- Y9. Young RC, Ozols RF, Myers CE. The anthracycline antineoplastic drugs. *New Engl J Med* 1981;305:139-153.
- Y10. Yurchenko PD, Tsilibary EC, Charonis AS, Furthmayr H. Laminin polymerization in vitro. Evidence for a two-step assembly with domain specificity. *J Biol Chem* 1985;260:7636-7644.
- Y11. Yurchenko PD, Tsilibary EC, Charonis AS, Furthmayr H. Models for the self-assembly of basement membrane. *J Histochem Cytochem* 1986;34:93-102.
- Z1. Zähringer J, Baliga NS, Munro HN. Novel mechanism for translational control in regulation of ferritin synthesis by iron. *Proc Natl Acad Sci USA* 1976;73:857-861.
- Z2. Zachau HG, Acs G, Lipmann F. *Proc US Nat Acad Sci* 1958; 44:885.
- Z4. Zamboni L, de Martino C. A reevaluation of the mesangial cells of the renal glomerulus. *Z Zellforsch Mikrosk Anat* 1968;86:364-383.
- Z5. Zilleruelo G, Hsia SL, Freundlich M, Gorman HM, Strauss J. Persistence of serum lipid abnormalities in children with idiopathic nephrotic syndrome. *J Pediatr* 1984;104:61-64.
- Z6. Zimmerman HJ, Henry JB. Clinical enzymology. In Henry JB, ed. *Clinical diagnosis and management by laboratory methods*, vol 1, 17th ed. Philadelphia:Saunders, 1979:347-384.
- Z7. Zoja C, Benigni A, Verroust P, Ronco P, Bertani T, Remuzzi G. Indomethacin reduces proteinuria in passive Heymann nephritis in rats. *Kidney Int* 1987;31:1335-1343.
- Z8. Zweier JL. Iron-mediated formation of an oxidized adriamycin free radical. *Biochim Biophys Acta* 1985;839:209-213.