



03068  
UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA  
DE MEXICO

UNIDAD ACADÉMICA DE LOS CICLOS PROFESIONAL Y  
DE POSGRADO DEL COLEGIO DE  
CIENCIAS Y HUMANIDADES  
CENTRO DE NEUROBIOLOGIA

ESTUDIO DE LA FUNCION HORMONAL  
REPRODUCTIVA EN LA RATA CON  
SINDROME NEFROTICO CRONICO

**T E S I S**

QUE PARA OBTENER EL GRADO DE:  
**MAESTRA EN CIENCIAS FISIOLÓGICAS**

PRESENTA  
**BIOL. MARIA GUADALUPE ORTIZ LOPEZ**

DIRECTOR DE TESIS:  
DR. JOSE PEDRAZA CHAVERRI  
DRA. MARTA A. MENJIVAR IRAHETA

MEXICO, D. F.

1996.

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

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 esta 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.

*A la memoria de mi padre.*

Este trabajo de investigación recibió apoyo del Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (Beca N°83222), de la Dirección General de Asuntos del Personal Académico de la Universidad Nacional Autónoma de México (Programa PAPIIT, proyecto N°IN201596), y de la Fundación UNAM.

## **AGRADECIMIENTOS**

Agradezco al Departamento de Biología de la Reproducción del Instituto Nacional de la Nutrición Salvador Zubirán y a la Facultad de Química de la Universidad Nacional Autónoma de México, por las facilidades brindadas para la realización del presente trabajo de tesis. También deseo expresar mi gratitud al Dr. José Pedraza Chaverrí por su valiosa contribución en la investigación realizada, y de manera muy especial a la Dra. Marta Menjivar por su amistad y apoyo a lo largo de mi formación profesional.

INDICE

Pg.

Resumen.....	i
Antecedentes.....	1
1. Sistema endócrino reproductivo en el varón.....	1
A. Mecanismos de control del eje hipotálamo-hipófisis-testículo.....	2
B. Mecanismos de acción de gonadotropinas.....	7
Hormona luteinizante (LH)	
Hormona folículo estimulante (FSH)	
C. Andrógenos.....	9
D. Mecanismo de acción de andrógenos.....	11
2. Síndrome Nefrótico.....	13
Proteinuria	
Hipoalbuminemia	
Hiperlipidemia	
Edema	
Otras alteraciones relacionadas con el síndrome nefrótico	
A. Causas del síndrome nefrótico.....	18
B. Enfermedad de cambios mínimos.....	19
C. Inducción experimental del síndrome nefrótico.....	20
D. Función reproductiva y síndrome nefrótico.....	22
Justificación.....	23
Objetivo.....	24
Objetivos específicos.....	24
Materiales y métodos.....	26
Resultados.....	29
Discusión.....	38
Conclusiones.....	44
Bibliografía.....	45
Presentación en congreso.....	53

## RESUMEN

El síndrome nefrótico inducido en ratas con la administración subcutánea de aminonucleósido de puromicina (ANP), es un modelo experimental de la enfermedad de cambios mínimos que se presenta en el humano y que se caracteriza por la presencia de proteinuria, hipoproteinemia, hiperlipidemia y edema. Estos cambios metabólicos cursan con alteraciones endocrinas importantes, sin embargo, no ha sido explorada la función reproductiva en ambos sexos. El síndrome nefrótico se presenta con períodos intermitentes de remisiones y recaídas espontáneas, las cuales finalmente degeneran en la instalación crónica del padecimiento y posteriormente en la insuficiencia renal. En el modelo experimental agudo, ha sido establecida la existencia de disfunción en el eje hipotálamo-hipófisis-gónada, pero aún son desconocidas las alteraciones en la instalación crónica de la enfermedad. Por lo que el objetivo del presente trabajo fue estudiar las alteraciones que sobre el eje hipotálamo-hipófisis-testículo se presentan en la rata con síndrome nefrótico crónico. El presente estudio exploró el síndrome nefrótico instalado crónicamente en un período de 112 días, el padecimiento se indujo en la rata macho a través de tres inyecciones subcutáneas de ANP en los días 0, 21 y 35 con dosis de 7.5, 5 y 5 mg/100 g peso respectivamente. Se sacrificaron grupos de 7 ratas controles y 7 nefróticas en los días 7, 14, 28, 56, 84 y 112. En las fechas preestablecidas se recolectaron muestras de suero y orina de 24 hrs, para medir colesterol, proteínas totales y creatinina. La función endócrina reproductiva se valoró en base a las concentraciones hormonales de las gonadotropinas LH, FSH y de PRL así como de las hormonas esteroideas sexuales T y E<sub>2</sub>, el peso de los tejidos andrógeno dependientes (próstata ventral y vesícula seminal) y andrógeno sensible (testículo), así como la capacidad reproductiva, la cual se evaluó realizando montas de los animales control y nefróticos con hembras fértiles. Los resultados obtenidos muestran la instalación del síndrome de manera crónica durante 112 días, manteniendo la proteinuria a lo largo de todo el estudio. Las concentraciones hormonales muestran evidencias de alteraciones endocrinas reproductivas que indican una pérdida de los mecanismos regulatorios del eje hipotálamo-hipófisis-testículo. Sin embargo, fue interesante observar que la capacidad reproductiva se alteró únicamente de manera transitoria, sugiriendo una adaptación a las condiciones endocrinas adversas. Finalmente, podemos concluir que existe disfunción endócrina en la rata macho con síndrome nefrótico crónico, cuyas manifestaciones sugieren un daño a nivel hipotalámico-hipofisiario y gonadal.

## INTRODUCCION

Los organismos multicelulares mantienen su equilibrio homeostático mediante la comunicación celular, siendo el sistema neuroendócrino (hipotálamo-hipófisis-órgano blanco) en los organismos superiores, uno de los principales participantes en este sistema de comunicación (1). La función óptima del sistema neuroendócrino implica una serie de mecanismos de control y regulación, cuya precisión y sensibilidad permite que el sistema ajuste continuamente su funcionamiento. Una de las características de este sistema es su capacidad para coordinar o sincronizar, en forma precisa, diferentes funciones del organismo con la dimensión tiempo-espacio en la que este se encuentre. Estas señales pueden ser de tipo endocrino o paracrino, basadas en la distancia sobre la cual actúa la señal (2). Este fino control homeostático se rompe ante la más mínima falla de sus componentes (3), como es el caso de la diabetes mellitus, o la insuficiencia renal crónica que causan trastornos endocrinológicos severos en pacientes de ambos sexos, tales como retraso en la pubertad y anomalías en los ejes tirotrópico, lactotrópico y somatotrópico, que son ejemplos de alteraciones específicas de la función endocrina (4-7).

### **1. Sistema endocrino reproducido en el varón**

Las dos funciones principales del eje hipotalámico-hipofisiario-gonadal masculino consisten en producir cantidades reguladas de hormonas esteroides sexuales de importancia fisiológica y gametos masculinos sanos en diversas



condiciones ambientales. La orquestación de la función reproductiva se lleva a cabo mediante impulsos neurales y hormonales que influyen sobre neuronas neurosecretoras que controlan la liberación de gonadotropinas, vía la liberación del péptido GnRH (Hormona liberadora de gonadotropinas). Esta constituye la vía final común por la cual el hipotálamo controla la secreción de las gonadotropinas hipofisarias: la hormona luteinizante (LH) y la hormona folículo estimulante (FSH), que son sintetizadas en la adenohipófisis y que tienen como destino principal el testículo. La LH estimula las células de Leydig para la producción de testosterona, en tanto que FSH actúa sobre las células de Sertoli, las cuales participan en la gametogénesis (8).

#### A. Mecanismos de control del eje hipotálamo-hipófisis-testículo

La íntima asociación funcional y anatómica de la glándula hipofisaria con el hipotálamo, se obtiene por el sistema microvascular portal hipofisario, el cual provee una vía delimitada para que sustancias del cerebro como la GnRH lleguen y controle la adenohipófisis, que a su vez estimula la liberación de LH y FSH. Esta acción se logra mediante la unión de GnRH a receptores específicos localizados sobre las membranas plasmáticas de los gonadotropos hipofisarios. El receptor de GnRH es una glicoproteína de 60 kilodaltones. El acoplamiento del GnRH a su receptor induce dimerización y formación de grupos que después son internalizados. Posteriormente se observa una degradación sustancial de los complejos formados por la hormona y los receptores en los lisosomas y un rápido proceso de reciclaje de receptores hacia la superficie celular (9). La unión

hormona-receptor induce una serie compleja de respuestas que dan lugar a la secreción y biosíntesis de las subunidades alfa y beta de LH y FSH, la dimerización de ambas subunidades y la activación de los procesos de glicosilación. Todas estas acciones son reguladas por mecanismos dependientes de calcio e independientes de AMPc (10), provocando una serie compleja de respuestas celulares (11).

La estructura primaria del decapeptido GnRH es: Piroglu<sup>1</sup>-His<sup>2</sup>-Trp<sup>3</sup>-Ser<sup>4</sup>-Tyr<sup>5</sup>-Gly<sup>6</sup>-Leu<sup>7</sup>-Arg<sup>8</sup>-Pro<sup>9</sup>-Gly<sup>10</sup>-NH<sub>2</sub> (12), la cual es idéntica en todos los mamíferos estudiados (13,14). En animales de experimentación se ha demostrado que el efecto de GnRH es episódica más que constante (15), y esto hace que la LH sea liberada en una serie de pulsos, condición indispensable para mantener la secreción de esteroides en las células blanco. La amplitud y frecuencia de los pulsos dependen de las condiciones fisiológicas de cada especie. La frecuencia de liberación de los pulsos modifica la especificidad del efecto de GnRH, en relación a la secreción y biosíntesis de las subunidades alfa y beta de LH y FSH (16,17).

El precursor proteico de GnRH es pre-pro-GnRH de 92 aminoácidos que consta de tres dominios principales: secuencia señal de 23 residuos de aminoácidos, dominio que participa en la internalización del precursor a la luz del retículo endoplásmico rugoso, seguido de una secuencia de Gly-Lys-Arg (posiciones 11 a 13) esencial para el procesamiento proteolítico y la amidación carboxi-terminal de las moléculas de GnRH. Los últimos 56 residuos se

denominan péptido asociado con GnRH (GAP). Posteriormente los productos de ruptura de GnRH y GAP son transportados hacia las terminaciones nerviosas y secretados en conjunto hacia la circulación portal dentro de gránulos por un mecanismo de transporte axonal rápido (18) (Figura 1).

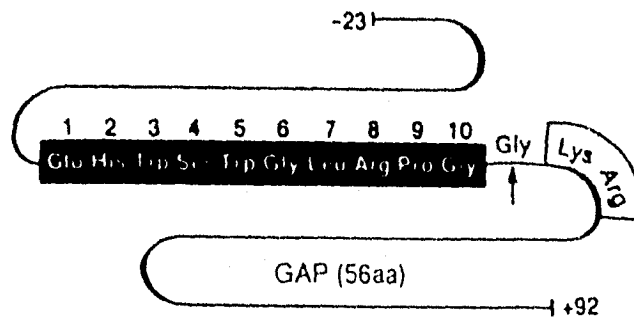


Figura 1. Representación esquemática de la estructura y la secuencia de aminoácidos de la pre-pro GnRH. La flecha indica el sitio de procesamiento proteolítico y amidación carboxilo-terminal de la molécula GnRH.

Estudios *in vitro* muestran que la liberación de la GnRH en respuesta a la llegada de un potencial de acción, se inicia por la entrada de  $Ca^{2+}$  extracelular a través de canales de calcio dependientes de voltaje (19). Esto induce la liberación de la GnRH por exocitosis, cuyo mecanismo, todavía desconocido, pudiera involucrar la activación de la proteína-quinasa C (20).

La regulación fisiológica de la biosíntesis y secreción de LH y FSH por medio de pulsos por la GnRH, implica la integración de las influencias hormonales por los esteroides gonadales, así como de inhibina, activina y folistatina. Estos factores gonadales, cuyo blanco son los gonadotropos, inducen cambios en la expresión de los genes en la subunidad alfa común y las subunidades beta específicas de la LH y FSH (21).

La retroalimentación positiva (estimulación) o negativa (inhibición) de los esteroides sexuales sobre la secreción de gonadotropinas, se lleva a cabo tanto en el hipotálamo como en la hipófisis, que, a su vez, modifican la liberación pulsátil de GnRH (22,23). Los niveles de andrógenos y estrógenos en mamíferos macho están regulados por un complejo sistema de retroalimentación denominado eje hipotálamo-hipófisis-testículo (figura 2).

El funcionamiento del sistema puede ser descrito utilizando como ejemplo un modelo cibernético que comprende:

- a) Un circuito de mando representado por el hipotálamo que supone el gobierno neural de la liberación de las gonadotropinas por medio del factor GnRH.
- b) Un circuito de regulación, representado por la adenohipófisis cuyas efectos son liberación de gonadotropinas LH y FSH.
- c) Un circuito modular representado por el testículo cuyos efectores son las hormonas sexuales: testosterona (T) y estradiol ( $E_2$ ).

En las terminaciones nerviosas del hipotálamo el GnRH se encuentra dentro de gránulos, cuya liberación es regulada por efectos estimulatorios o inhibitorios de los esteroides sexuales y diversos neurotransmisores (24).

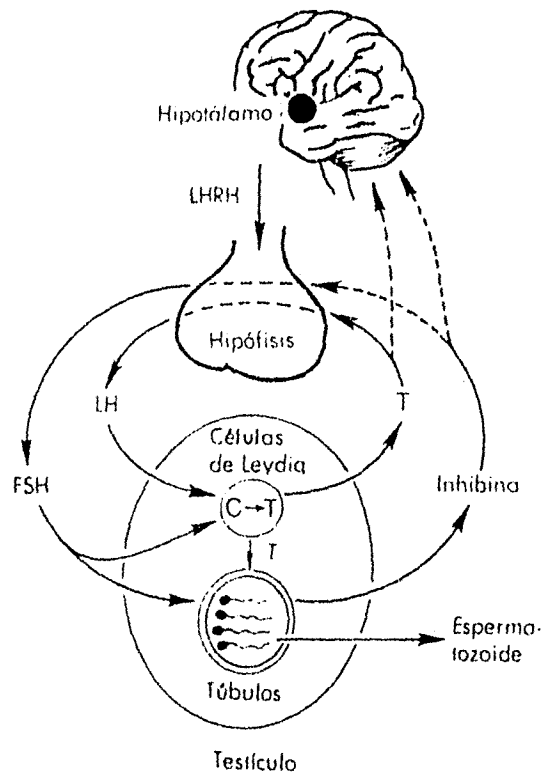


Figura 2. Relación funcional del eje hipotálamo-hipófisis-testículo. La secreción de LH y FSH es regulada directamente por hormonas sexuales (T y E<sub>2</sub>), y el péptido hipotalámico GnRH.

En la eminencia media de la rata, la concentración de GnRH está regulada por las concentraciones plasmáticas de los esteroides sexuales. En animales

En las terminaciones nerviosas del hipotálamo el GnRH se encuentra dentro de gránulos, cuya liberación es regulada por efectos estimulatorios o inhibitorios de los esteroides sexuales y diversos neurotransmisores (24).

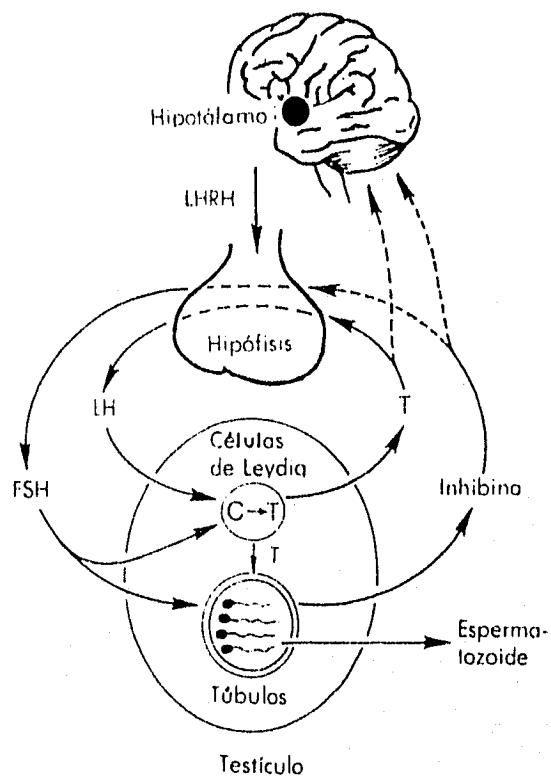


Figura 2. *Relación funcional del eje hipotálamo-hipófisis-testículo. La secreción de LH y FSH es regulada directamente por hormonas sexuales (T y E<sub>2</sub>), y el péptido hipotalámico GnRH.*

En la eminencia media de la rata, la concentración de GnRH está regulada por las concentraciones plasmáticas de los esteroides sexuales. En animales

castrados, se da una disminución en los esteroides sexuales, mientras que la concentración de LH y FSH aumentan; recuperando éstos péptidos sus valores normales después de tratamientos con dosis fisiológicas de T (25).

## **B. Mecanismos de acción de las gonadotropinas**

### **Hormona luteinizante (LH)**

El funcionamiento de las células de Leydig del testículo, está regulado fundamentalmente por las hormonas hipofisarias LH, FSH y prolactina. De éstas, la LH juega un papel importante ya que estimula la síntesis de esteroides por la activación de las enzimas involucradas en la esteroidogénesis y el aumento a largo plazo de la síntesis de nuevas proteínas en las células de Leydig (26-28) El mecanismo por el que la LH modifica la producción de T por las células de Leydig radica en la estimulación de la actividad del complejo enzimático responsable de la ruptura de la cadena lateral del colesterol. Dentro de las mitocondrias el colesterol libre es hidroxilado y convertido a pregnenolona, la cual pasa de la mitocondria al retículo endoplásmico liso, en donde entra a la vía  $\Delta^4$  o  $\Delta^5$  de la esteroidogénesis dependiendo de la especie (29). Este efecto hormonal representa el paso limitante en la síntesis de T a partir del colesterol, lo que indica el posible lugar de acción de la LH en la esteroidogénesis testicular (30,31).

En la membrana plasmática de las células de Leydig del testículo se encuentran receptores de LH. Una de las primeras respuestas de estas células

a la estimulación con esta hormona, es la activación del sistema enzimático adenil ciclasa con el consecuente incremento en la formación de AMPc, así como de las concentraciones intracelulares de  $Ca^{+2}$  en compartimientos específicos de la célula que están íntimamente ligados con el proceso esteroideogénico (32-33).

#### **Hormona folículo estimulante (FSH)**

En el testículo de los mamíferos, las células de Sertoli son el principal blanco de acción de la FSH, uniéndose esta hormona a su receptor que se localiza en la membrana plasmática. Esta acción activa el sistema adenil ciclasa dependiente de magnesio y de guanil nucleótido, así como la intervención de varias isoenzimas fosfodiesterasas, una de las cuales es dependiente de  $Ca^{+2}$ . El incremento del AMPc intracelular activa a su vez, a las proteína-quinasas dependientes de AMPc, e induce la fosforilación de sustratos endógenos, lo que se traduce en diferentes funciones de las células de Sertoli (34-35).

La FSH regula en las células de Sertoli los siguientes procesos celulares: el flujo de iones, el metabolismo de los nucleótidos cíclicos, la síntesis de ARN, la síntesis y secreción de esteroides sexuales, la división y movilidad celular. En general todos estos eventos están regulados por cambios en las concentraciones intracelulares de AMPc y  $Ca^{+2}$ . Sin embargo, se desconoce la forma en que el AMPc y  $Ca^{+2}$  están interrelacionados con las funciones de las células de Sertoli (36-37). La FSH es controlada por un sistema de retroalimentación negativa que involucra tanto hormonas esteroides como



péptidos gonadales. La inhibina es el péptido inhibidor de la FSH hipofisaria y es secretada por las células de Sertoli hacia la luz del túbulo seminífero y al fluido intersticial como resultante de la interacción de la FSH. Tanto T como  $E_2$  tienen también un efecto directo sobre la secreción de FSH (38).

### C. Andrógenos

Los principales andrógenos naturales son la androstendiona (A), la T, y la 5 alfa dihidrotestosterona (DHT) (39) los cuales se sintetizan en el testículo, en la corteza suprarrenal y en el ovario; la DHT se forma fundamentalmente en órganos blanco dependiente de andrógenos (próstata ventral y vesícula seminal). La biosíntesis de andrógenos se inicia a partir del acetato y utiliza al colesterol como intermediario obligatorio. El primer paso en la biosíntesis de andrógenos (de colesterol a pregnenolona) es a nivel mitocondrial, que tiene como paso limitante la hidroxilación enzimática en C-20-22 (configuración alfa). Este último paso está selectivamente activado en el testículo en edad adulta por la LH (40).

La biotransformación de pregnenolona a A y T en los mamíferos puede proceder a través de dos vías metabólicas diferentes dependiendo del órgano endocrino ó de la especie. Estas vías son conocidas como delta 5 y delta 4 dependiendo del punto de insaturación de los compuestos intermediarios (41,42) (figura 3).

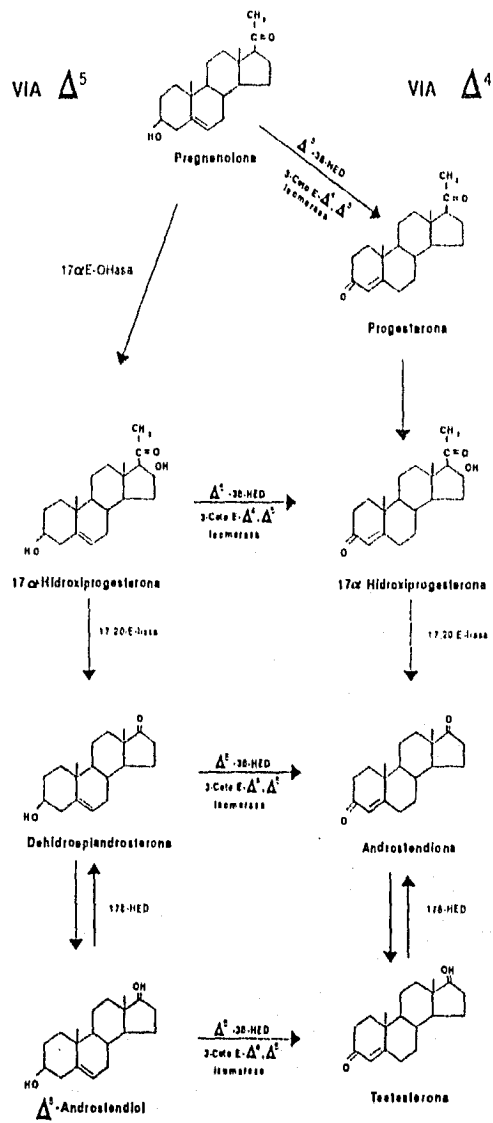


Figura 3. *Rutas biosintéticas que utiliza la célula de Leydig para la producción de T. La vía de los deltas 5, 3 $\beta$ -OH representa probablemente la utilizada por el testículo humano para la síntesis de T.*

#### D. Mecanismo de acción de andrógenos

Para ejercer su acción los andrógenos necesitan unirse a un receptor intracelular específico, formando un complejo hormona-receptor el cual interacciona directamente dentro de la cromatina en donde activa o inhibe la transcripción de genes andrógeno-regulados (43).

Una vez que se ha formado el complejo andrógeno-receptor este es capaz de atravesar la envoltura nuclear, y en el interior del núcleo se une a sitios específicos de la cromatina, dando por resultado el inicio de la transcripción de genes, que se expresan sólo en presencia de andrógenos. Los ARNm específicos formados debido a la estimulación por la hormona, se dirigen al citoplasma en donde serán traducidos. De esta forma se sintetizan las proteínas andrógeno-dependientes, que van a intervenir en la regulación del desarrollo, la diferenciación celular y en las diferentes respuestas fisiológicas.

El receptor de andrógenos pertenece a una superfamilia de receptores que incluyen mineralocorticoides, glucocorticoides, progestágenos, estrógenos, hormonas tiroideas, ácido retinoico y vitamina D. Este receptor es una proteína intracelular que se encuentra localizada en células de los tejidos blanco, cuyo peso molecular es aproximadamente de 100 kilodaltones (humano PM 98.99 y rata PM 98.22), el gen para este receptor se encuentra en el cromosoma X (región Xq11-12) y consta de ocho exones y seis intrones y se estima que tiene más de 75 Kb (44,45).

El receptor de andrógenos al igual que todos los receptores, está constituido de tres dominios importantes: 1) el dominio amino-terminal que es hipervariable en tamaño y composición de aminoácidos y está involucrado en la activación de la transcripción, 2) dominio responsable de la unión al ADN, que está situado en una región ampliamente conservada localizada en el cuerpo central de la proteína, este dominio de unión al ADN es rico en cisteínas y se configura en dos asas en los cuales estos aminoácidos forman un complejo de coordinación tetraédrica con el zinc ("zinc-binding fingers") y 3) dominio carboxilo-terminal el cual aparentemente se pliega para formar una superficie hidrofóbica a la cual se une el esteroide (46-48).

Los andrógenos autorregulan la expresión del receptor de andrógenos a nivel transcripcional al modular los niveles de su ARNm (49). El empleo de sondas moleculares ha permitido además, hibridar ARN ó ADN, conocer que el receptor de andrógenos tiene una regulación a la baja en próstata, epidídimo, vesícula seminal, riñón y cerebro de rata (50).

## 2. Síndrome Nefrótico

El síndrome nefrótico (SN) es un padecimiento renal que se caracteriza por proteinuria, edema, ascitis, retención de sodio, albuminuria, hiperlipidemia, hipoalbuminemia y desnutrición (51). Esto es consecuencia de las alteraciones en la pared capilar glomerular que permiten una excesiva filtración de las proteínas plasmáticas, lo que trae como consecuencia una amplia variedad de alteraciones inmunológicas, aumento en la susceptibilidad a infecciones, trastornos hematológicos, hormonales, enzimáticos, minerales y vitamínicos (51).

### Proteinuria

La proteinuria es la característica distintiva del estado nefrótico, la excreción urinaria de proteínas de 3.5 g por 1.73 m<sup>2</sup> de superficie corporal por día en los humanos, se considera arbitrariamente el límite inferior para definir al estado nefrótico, principalmente debido a que rara vez se observa proteinuria de esta magnitud en las enfermedades túbulo intersticiales y vasculares del riñón (51). A menudo, aunque no invariablemente, la proteinuria abundante sostenida se acompaña de hipoalbuminemia.

El mecanismo por el cual se produce la proteinuria en el humano no está completamente dilucidado. Sin embargo, las evidencias indican que existe un daño en la barrera de filtración glomerular. Esta barrera está constituida por la

pared capilar glomerular, la cual consta de tres componentes: 1) las células endoteliales cuyo citoplasma está fenestrado, 2) la membrana basal glomerular (MBG) compuesta por tres capas: lámina rara interna, lámina densa y lámina rara externa, y 3) los procesos podocíticos de las células epiteliales (51) (Figura 5).

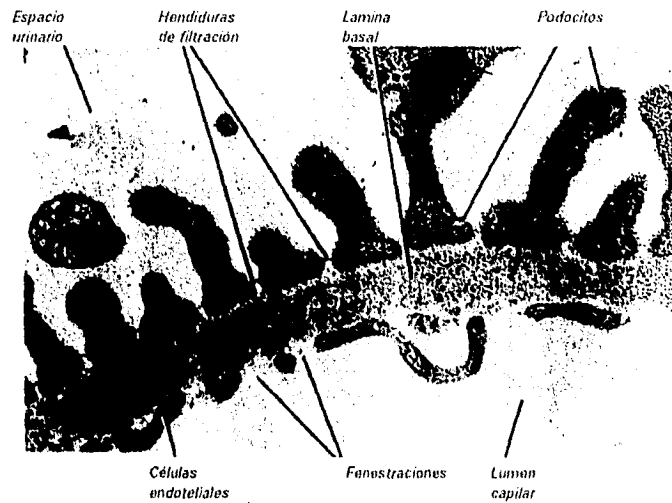


Figura 5. Esquema de la barrera de filtración glomerular.

Cada uno de los componentes de la pared capilar tienen poros en su espesor que sólo permiten el paso de moléculas por debajo de cierto tamaño; las células endoteliales tienen fenestraciones en su superficie; la MBG es una malla de fibras de colágeno tipo IV (52) y entre los procesos podocíticos de las células epiteliales existen diafragmas de hendidura, en los cuales hay aberturas

rectangulares de 4x14 nm, que constituyen los poros de menor tamaño y permiten el paso de moléculas con diámetro aproximado de 5.2 nm (53). Además, existe una barrera electrostática, la cual está dada por polianiones (sialoproteínas y heparán sulfato-proteoglicanos, HS-PG), que restringen selectivamente el paso de moléculas con cargas negativas (54). El plasmalema de las fenestraciones endoteliales tiene una cubierta rica en ácido siálico que se tiñe con oro coloidal y que contiene HS-PG. Los HS-PG están distribuidos principalmente dentro de la lámina rara interna y externa de la MBG, y los procesos podocíticos están cubiertos por un glucocálix rico en ácido siálico (55). Por lo tanto, los factores que determinan el paso de las moléculas por la barrera de filtración son: el tamaño y la deformabilidad, la carga eléctrica, y la configuración molecular, así como la hemodinámica glomerular.

En la nefrosis por ANP, la depuración fraccional de macromoléculas aniónicas y sin carga se encuentra muy elevada, lo que sugiere que la selectividad, tanto de tamaño como de carga, está alterada (56). La lesión renal característica del SN es la fusión de los procesos podocíticos, lo cual parece deberse a la pérdida de la carga negativa de su superficie. Esto se apoya en el hecho de que la administración de polianiones al riñón produce proteinuria y fusión de podocitos. No está claro si los HS-PG de la barrera de filtración glomerular disminuyen en la nefrosis por ANP; sin embargo, en los pacientes con SN congénito, los sitios aniónicos ricos en heparán sulfato, prácticamente no existen (57-59). Estudios en animales con nefrosis inducida con ANP indican la presencia de proteinuria no selectiva en esta enfermedad (60). Asimismo se

ha informado de un aumento en la transcripción del gen de la albúmina en el hígado de ratas nefróticas (61,62).

### **Hipoalbuminemia**

En el SN, sólo una fracción de las proteínas filtradas aparece en orina, el resto se reabsorbe y se metaboliza en el túbulo proximal. Esto produce pérdida de proteína del espacio intravascular mucho mayor que la esperada por la magnitud de la proteinuria. El resultado es un incremento importante en el catabolismo de las proteínas que la síntesis hepática no alcanza a compensar, lo que trae como consecuencia hipoalbuminemia y edema. En ocasiones la hipoalbuminemia puede coincidir con excesiva reducción del volumen plasmático, hipotensión postural, con síncope y choque, y a veces hay insuficiencia renal aguda (51,57).

### **Hiperlipidemia**

Parece que la disminución de la presión oncótica del plasma estimula la síntesis hepática de las lipoproteínas, y por tanto, la hiperlipidemia es un acompañante frecuente del estado nefrótico. En el SN están elevadas prácticamente todas las fracciones de lípidos y lipoproteínas séricas, incluyendo el colesterol y todas sus fracciones (total, libre y esterificado), así como los fosfolípidos, en tanto que los triglicéridos no siempre se elevan. Los ácidos grasos libres son normales, aunque la fracción unida a albúmina está reducida.



Las lipoproteínas de muy baja densidad (VLDL), las de densidad intermedia (IDL) y las de baja densidad (LDL) se encuentran aumentadas, mientras que las lipoproteínas de alta densidad (HDL) no siempre aumentan e incluso pueden disminuir. La composición molecular de las lipoproteínas está alterada ya que su proporción de colesterol y triglicéridos es mayor que lo normal. Además existen alteraciones en la composición y cantidad de las apoproteínas. Estos trastornos se normalizan con rapidez al remitir el SN (51,63). Otro factor que contribuye a la hipercolesterolemia del SN es el aumento en la síntesis de colesterol inducido por la elevación del ácido mevalónico, que, a su vez, se debe a disminución de su catabolismo renal (64).

#### **Edema**

De acuerdo con la hipótesis clásica, la hipoalbuminemia es el paso inicial en la formación del edema y en la retención de sodio. La hipoalbuminemia produce disminución de la presión coloidosmótica de la sangre, lo que favorece el movimiento de agua y solutos al espacio intersticial causando hipovolemia. Esto activa a los sensores de volumen y a los barorreceptores, los cuales, por medio de una variedad de mecanismos neurohormonales y hemodinámicos, envían señales al riñón que se traducen en retención de sodio y agua. De acuerdo con esta hipótesis los pacientes con SN deberían tener las siguientes características: 1) volumen sanguíneo bajo durante la formación del edema, 2) diuresis y natriuresis en respuesta a maniobras que aumentan el volumen sanguíneo, y 3) evidencia funcional de hipovolemia. Sin embargo esto no se ha

demostrado en la mayor parte de los casos (57).

#### **Otras alteraciones asociadas al síndrome nefrótico**

El aumento en la excreción urinaria de la transferrina puede causar anemia microcítica hipocrómica resistente a hierro (65). Debido a las pérdidas urinarias de las proteínas de unión a los metales pueden producirse deficiencias de cinc y de cobre (66). Las pérdidas por la orina de antitrombina III pueden coincidir con un aumento de la coagulación que puede equilibrarse o no por las pérdidas por la orina de factores procoagulantes (67). Si esto no sucede se puede producir un estado hipercoagulante y el aumento en la tendencia a la trombosis puede conducir a la trombosis de la vena renal (51).

#### **A. Causas del síndrome nefrótico**

El síndrome nefrótico puede desarrollarse por diversas causas, por lo que se clasifica en:

I.- Síndrome nefrótico primario que también se le conoce como idiopático. Este se puede clasificar de acuerdo a las lesiones histológicas en: enfermedad de cambios mínimos, glomerulonefritis proliferativa del mesangio, glomerulosclerosis focal y segmentaria, glomerulopatía membranosa y glomerulonefritis membranoproliferativa.

El SN idiopático se observa en adultos y niños, sin embargo parecen existir amplias diferencias en la prevalencia (63). El SN de cambios mínimos se presenta principalmente en niños menores de 15 años (68) y la mayoría de las veces éste remite espontáneamente o bien en respuesta a esteroides.

El diagnóstico del síndrome nefrótico idiopático, se hace por exclusión entre las causas conocidas del SN. Además, las formas idiopáticas del SN se clasifican de acuerdo a las características morfológicas que se encuentran en la biopsia renal. Se requiere hacer una biopsia renal al menos en los adultos, para asegurar el diagnóstico de SN idiopático y para la formulación de un plan racional de tratamiento. Los niños no siempre necesitan someterse a biopsia renal, puesto que a menudo un estudio clínico cuidadoso puede llevar al diagnóstico seguro (51).

II.- Síndrome nefrótico secundario que es consecuencia de otras enfermedades o alteraciones sistémicas como: infecciones virales y bacterianas, medicamentos, neoplasia, multisistémicas, heredofamiliares, sífilis, varicela, parásitos y protozoarios. La frecuencia de éstas últimas infecciones dependen de la geografía y otros factores (51).

#### **B. Enfermedad de cambios mínimos**

La enfermedad de cambios mínimos es la forma más frecuente de SN idiopático que se encuentra en los niños (70-80 %). En el adulto es frecuente

y representa el 23-31 % de casos en pacientes nefróticos mayores de 16 años, presentándose con mayor frecuencia en los hombres que en las mujeres. En esta forma del SN idiopático el microscopio de luz no demuestra alteraciones de los capilares glomerulares, sólo algunas muy pequeñas (de aquí la designación de "cambios mínimos"), pero con el microscopio electrónico es notable un borramiento difuso de los procesos podocíticos del epitelio (69).

Típicamente, los pacientes se presentan con SN declarado, presión arterial normal, velocidad de filtración glomerular normal o reducida ligeramente y un sedimento urinario benigno. Inexplicablemente casi siempre se presentan remisiones y recaídas espontáneas con proteinuria abundante. El tratamiento es empírico y sintomático, si se toma en cuenta que se desconocen la etiología y la patogénesis. Hay muchas pruebas de que los corticosteroides aumentan notablemente la tendencia natural de esta enfermedad a tener remisiones espontáneas, pero aún así el tratamiento diario o en días alternos con esteroides por vía oral parece ser igualmente efectivo (51).

#### C. Inducción experimental del síndrome nefrótico

El síndrome nefrótico puede ser inducido experimentalmente inyectando suero antirriñón (70), daunomicina, adriamicina (71) o aminonucleósido de puromicina (ANP). El ANP fue sintetizado en 1954 por Baker. El ANP es producto de la hidrólisis del residuo p-metoxitirosil que se encuentra unido al grupo amino del antibiótico puromicina (72) (figura 4). La estructura del ANP

esta constituida por dos partes: un anillo de purina con un grupo dimetil amino en la posición 6, y un amino azúcar desoxirribosídico en posición 3' (73).

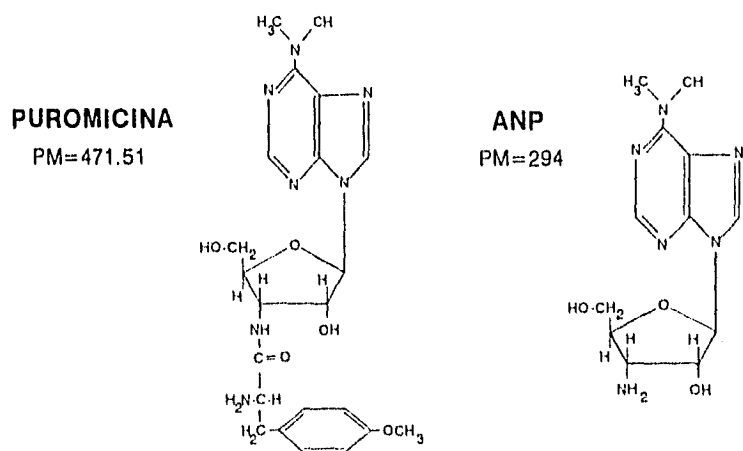


Figura 4. Estructura de puromicina y aminonucleósido de puromicina.

El ANP, a diferencia de la puromicina, no presenta efecto en la incorporación de aminoácidos, dentro de la síntesis de la proteína total (74) o sobre la actividad de los sistemas sintetizadores de proteínas libres. El mecanismo por el que 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 (75). Dado que el SN en ratas inducido por ANP se parece mucho al síndrome nefrótico de cambios mínimos del humano, este compuesto es uno de los más empleados para estudiar este padecimiento (76).

Hasta el momento se desconoce el mecanismo por el cual el ANP causa daño renal, pero existen estudios que indican que el daño celular es mediado por la presencia de radicales libres del oxígeno y sus especies reactivas tales como peróxido de hidrógeno ( $H_2O_2$ ), iones superóxido ( $O_2^-$ ) e hidroxilo ( $OH^\cdot$ ), que son productos del metabolismo del ANP (77). Se ha visto que una dieta alta en antioxidante disminuye la proteinuria y el daño histológico, y la ausencia de antioxidantes la exacerba (78).

#### **D. Función reproductiva y síndrome nefrótico**

Existen muy pocos trabajos que exploran los cambios endocrinos reproductivos en el SN agudo y al parecer ninguno que explore los trastornos crónicos tanto en modelos experimentales como en humanos. Las investigaciones realizadas en modelos animales con SN en fase aguda son contradictorias. Ha sido reportado que ratas macho a las que se les induce el SN con ANP presentan concentraciones bajas de testosterona y LH, con respuestas normales a nivel testicular e hipofisario por estímulo de la hormona gonadotrópica corionica (hCG) y GnRH respectivamente (79), sin embargo existe un segundo reporte que manifiesta que si bien la T disminuye en los animales nefróticos, las concentraciones de LH se encuentran elevadas (80). En animales hembra, también se ha reportado la existencia de disfunción en el eje hipotálamo-hipófisis-gónada con este síndrome, la cual se manifiesta básicamente por la pérdida del ciclo estral, presencia de atresia folicular y bajos niveles de LH y estradiol ( $E_{21}$ ) (81).

## JUSTIFICACION

A pesar de que el SN agudo es un padecimiento que cursa con alteraciones endocrinas, que afectan principalmente la función reproductiva, estas no han sido documentadas en pacientes de ambos sexos. En modelos experimentales, existen pocos reportes de alteraciones endócrino-reproductivas en SN agudo, en los que la principal manifestación es la presencia de hipogonadismo-hipogonadotrópico, que en la rata macho se caracteriza por bajos niveles de T y LH, así como por disminución en el peso de tejidos andrógeno-dependientes; por lo que es de esperarse que en el modelo de la rata con SN instalado crónicamente existan alteraciones endócrinas importantes y que éstas, a diferencia de los cambios agudos puedan mantenerse de manera crónica.

## **OBJETIVO**

Estudiar las alteraciones que sobre el eje hipotálamo-hipófisis-testículo y la capacidad reproductiva se presentan en el síndrome nefrótico crónico inducido con aminonucleósido de puromicina.

## **OBJETIVOS ESPECIFICOS**

- 1.- Establecer los cambios hormonales reproductivos en el síndrome nefrótico crónico.
- 2.- Evaluar los posibles efectos del síndrome nefrótico crónico sobre los tejidos andrógeno sensibles y andrógeno dependientes.
- 3.- Estudiar los posibles efectos del síndrome nefrótico crónico sobre la capacidad reproductiva.



Para alcanzar los objetivos específicos, el trabajo se desarrolló de la siguiente manera:

- 1.- Evaluación de los diferentes esquemas de administración de ANP para inducir el SN crónico por al menos 112 días, midiendo proteínas totales en suero y orina, así como colesterol y creatinina en suero en los días 7, 14, 28, 56, 84 y 112.
- 2.- Determinación de los niveles hormonales de LH, FSH, PRL, T, y E<sub>2</sub>, en los días 7, 14, 28, 56, 84 y 112, después de la administración del ANP.
- 3.- Registro del peso corporal de los animales en los días establecidos, así como el peso de los siguientes tejidos: próstata ventral, vesícula seminal y testículo.
- 4.- Evaluación de la función reproductiva en la rata macho con síndrome nefrótico crónico en los días preestablecidos.

En cada experimento se emplearon grupos de ratas no tratadas como controles.

## MATERIALES Y METODOS

### Animales:

Se emplearon ratas Wistar macho, adultas de 200-250 g de peso, de 2-3 meses de edad para la inducción del síndrome nefrótico y ratas hembra ciclando para la evaluación de la capacidad reproductiva, mantenidas en ciclos de 14 h luz y 10 h oscuridad, con agua y comida ad libitum.

### Diseño experimental

Para establecer de manera crónica el SN, éste se indujo probando diferentes esquemas de administración de ANP (Sigma Chemical Co., St Louis, Mo) por vía subcutánea. Los dos esquemas evaluados fueron los siguientes:

Dosis de ANP	7.5 mg/100 g peso	5 mg/100 g peso	5 mg/100 g peso
Esquema A	día 0	día 21	día 56
Esquema B	día 0	día 21	día 35

Los grupos de ratas para cada fase fueron de 7 animales controles y 7 animales nefróticos, los cuales se sacrificaron en los días 7, 14, 28, 56, 84 y 112.

Se eligió el esquema de inducción B del SN crónico que mantuviera los parámetros bioquímicos característicos del síndrome como son la proteinuria, hipercolesterolemia principalmente por un período mínimo de 112 días.

#### **Toma de muestras:**

En los días referidos las ratas se sacrificaron por decapitación y se tomaron muestras de sangre, a partir de las cuales se separó el suero, el cual se almacenó a  $-20^{\circ}\text{C}$  hasta su procesamiento. Se recolectaron muestras de orina de 24 h en esos mismos días empleando jaulas metabólicas individuales. En los días de sacrificio se registró el peso de: próstata ventral, testículo y vesícula seminal. También se registró el peso corporal de los animales en cada ocasión.

#### **Cuantificaciones:**

##### **1. Determinaciones bioquímicas**

En suero se midieron: colesterol, proteínas totales y creatinina por métodos colorimétricos (82), así como proteínas totales en orina (74).

Se eligió el esquema de inducción B del SN crónico que mantuviera los parámetros bioquímicos característicos del síndrome como son la proteinuria, hipercolesterolemia principalmente por un período mínimo de 112 días.

#### **Toma de muestras:**

En los días referidos las ratas se sacrificaron por decapitación y se tomaron muestras de sangre, a partir de las cuales se separo el suero, el cual se almaceno a -20°C hasta su procesamiento. Se recolectaron muestras de orina de 24 h en esos mismos días empleando jaulas metabólicas individuales. En los días de sacrificio se registró el peso de: próstata ventral, testículo y vesícula seminal . También se registró el peso corporal de los animales en cada ocasión.

#### **Cuantificaciones:**

##### **1. Determinaciones bioquímicas**

En suero se midieron: colesterol, proteínas totales y creatinina por métodos colorimétricos (82), así como proteínas totales en orina (74).

## 2. Cuantificaciones hormonales

Las hormonas proteicas LH, FSH y PRL se midieron por RIA usando la técnica de doble anticuerpo con protocolo y reactivos donados por The National Hormone and Pituitary Program (Baltimore, MD) utilizando como estándares las preparaciones internacionales LH-RP3, FSH-RP2, PRL-RP3. Las hormonas esteroideas T y E<sub>2</sub> se determinaron por RIA en fase sólida usando estuches comerciales de Diagnostic Products (Los Angeles, CA).

## 3. Función reproductiva

Se realizaron montas de ratas macho nefróticos y controles en cada una de las fechas estudiadas, con una hembra fértil cada uno, permitiendo su apareamiento por un período de 4 días consecutivos posteriores a cada fecha. En caso de fertilización, el embarazo se dejó progresar y se registraron las características de las camadas, básicamente número de crías, sexo y peso al destete.

## Análisis Estadístico

Se empleó la prueba de t de Student no pareada para comparar los resultados de cada día respecto de los controles respectivos. Una  $p < 0.05$  se consideró como significativa.

## RESULTADOS

Los resultados se presentan siguiendo el orden en que se llevó a cabo el estudio:

La tabla 1 muestra los resultados de las determinaciones bioquímicas del esquema de inducción del SN crónico elegido (esquema B), realizadas en los días 7, 14, 28, 56, 84 y 112 del estudio. Se observa una disminución significativa en las concentraciones de proteínas en suero en los días 7 al 28; un aumento significativo de colesterol a lo largo de todo el estudio y altas concentraciones de proteína en orina, en los 112 días del estudio. La creatinina sérica aumentó únicamente el día 7, sin que su concentración superara 1 mg/dl en todo el estudio.

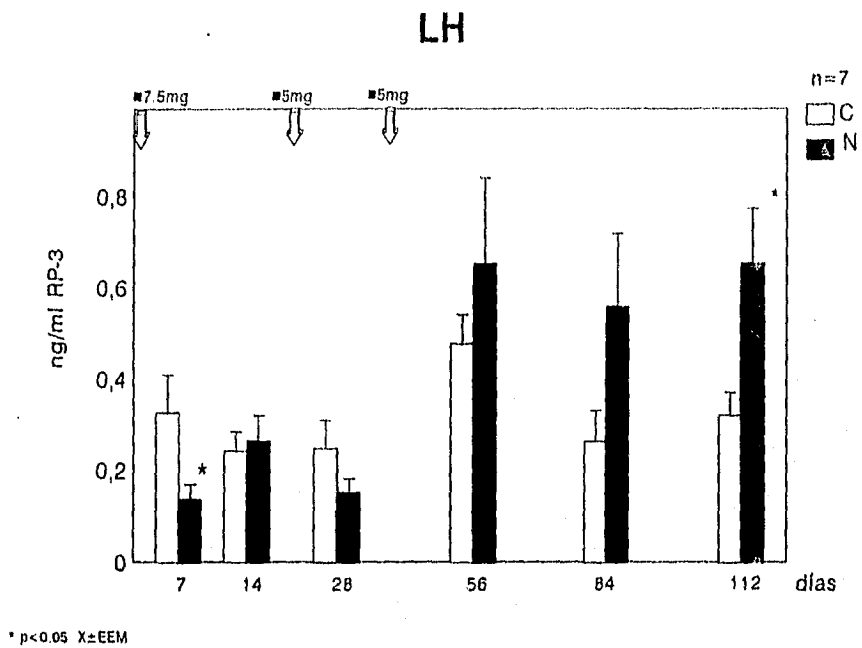
Tabla 1

Determinaciones bioquímicas en la rata macho con síndrome nefrótico crónico

Días		Proteínas en Suero g/dl	Colesterol en Suero mg/dl	Creatinina en Suero mg/dl	Proteína en Orina mg/24h	n
7	C	7.6±0.4	61±2	0.4±0.00	28±3	6
	N	4.9±0.1*	313±14*	0.9±0.06*	533±53*	7
14	C	7.5±0.1	62±3	0.4±0.00	28±3	6
	N	6.9±0.2*	263±11*	0.4±0.04	437±31*	7
28	C	8.1±0.2	57±3	0.4±0.01	25±2	7
	N	5.6±0.2*	219±29*	0.4±0.04	499±44*	6
56	C	6.9±0.1	64±2	0.5±0.00	30±9	7
	N	6.7±0.2	435±79*	0.6±0.08	449±65*	7
84	C	9.5±0.2	75±4	0.7±0.01	19±3	6
	N	8.8±0.3	165±26*	0.7±0.05	653±132*	7
112	C	8.5±0.5	65±4	0.5±0.01	18±3	7
	N	8.3±0.5	387±54*	0.8±0.05	383±48*	10

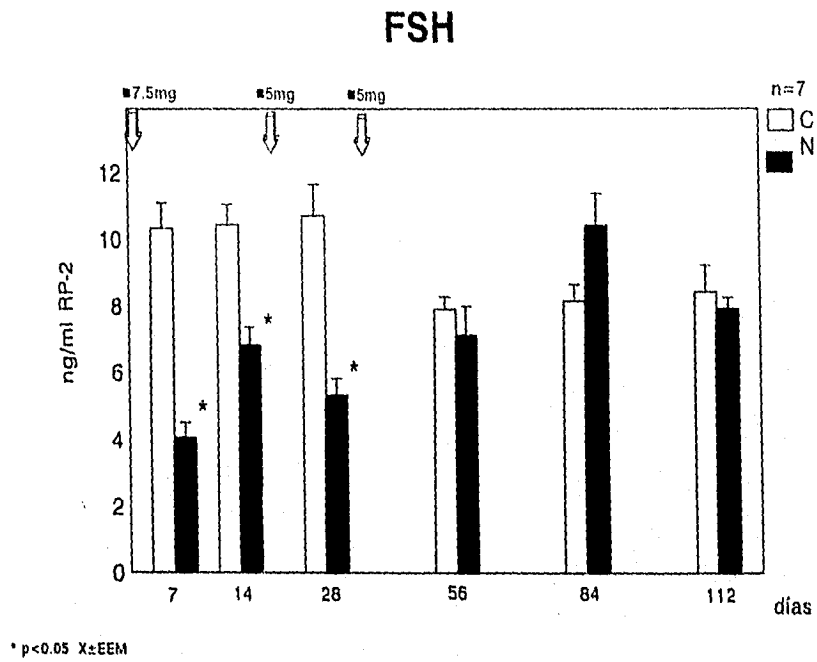
\*±EEM P<0.05\*

Los niveles de LH disminuyeron significativamente respecto del grupo control, únicamente el día 7, recuperando su concentración normal en los días 14 y 28, para posteriormente mostrar una tendencia a incrementar a partir del día 56, llegando a presentar un aumento significativo el día 112 (Fig 6).



**Figura 6.** Concentraciones en suero de LH en ratas macho controles (C) y nefrédicas (N), en los diferentes días estudiados. Las flechas indican las aplicaciones y dosis de ANP por 100 g de peso (■), en los días 0, 21 y 35.

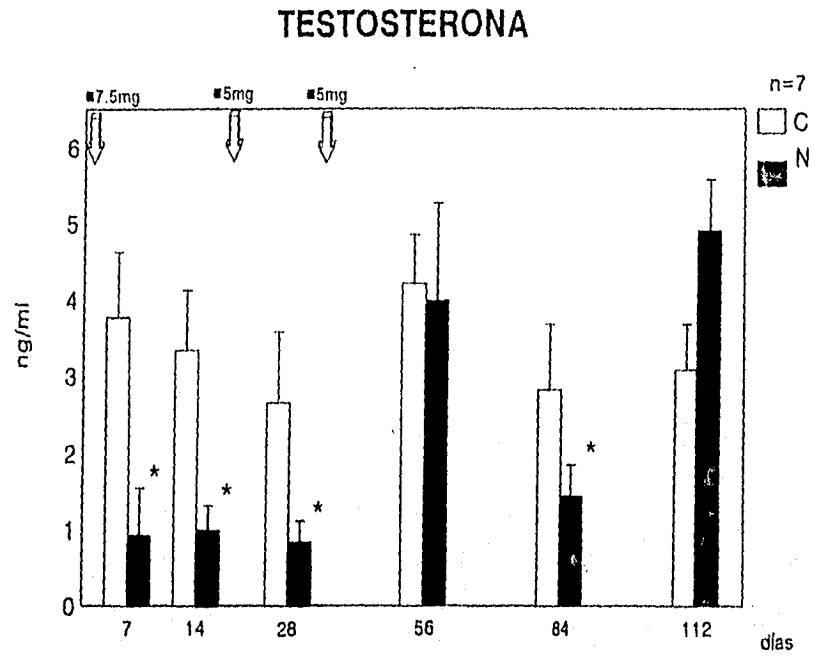
Los niveles circulantes de FSH disminuyeron significativamente en los animales nefróticos, durante los días 7, 14 y 28 (figura 7), recuperando su nivel normal por el resto del estudio.



**Figura 7.** Concentraciones de FSH en suero de ratas macho controles (C) y nefróticas (N), en los diferentes días estudiados. Las flechas indican las aplicaciones y dosis de ANP por 100 g de peso (■), en los días 0, 21 y 35.



La concentración de testosterona disminuyó en las ratas con síndrome nefrótico crónico en los días 7, 14, 28 y 84, recuperando su valor normal en los días 56 y 112 (Fig 8).



**Figura 8.** Concentraciones de T en suero de ratas macho controles (C) y nefróticas (N), en los diferentes días estudiados. Las flechas indican las aplicaciones y dosis de ANP por 100 g de peso (■), en los días 0, 21 y 35.

Asimismo, la concentración de  $E_2$  en los machos nefróticos, se mantuvo significativamente disminuida durante todo el estudio exceptuando el día 56 en el que su valor fue normal (figura 9).

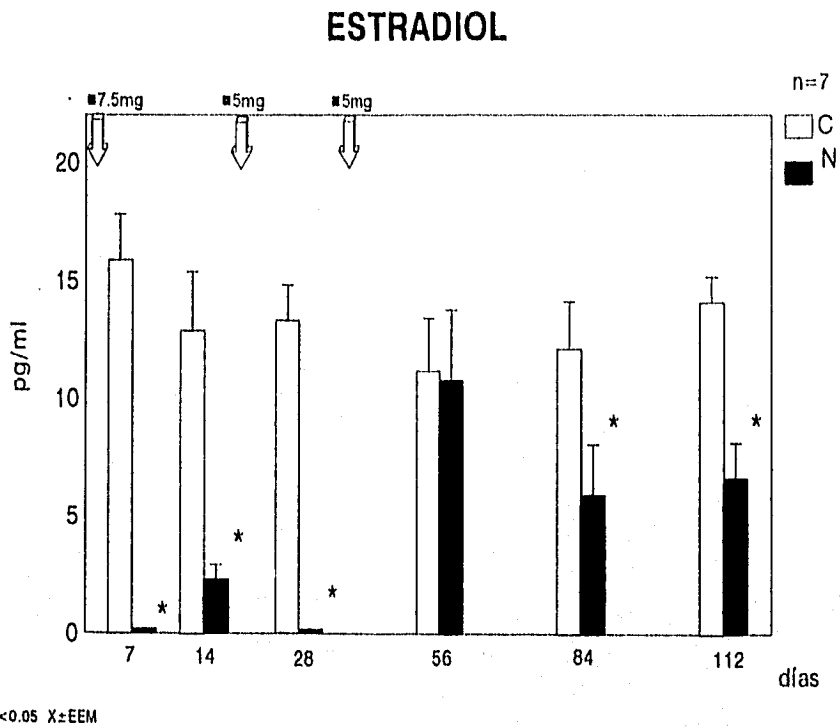


Figura 9. Concentraciones de  $E_2$  en suero de ratas macho controles (C) y nefróticas (N), en los diferentes días estudiados. Las flechas indican las aplicaciones y dosis de ANP por 100 g de peso (■), en los días 0, 21 y 35.

La concentración de PRL aumentó significativamente en las ratas con síndrome nefrótico crónico en los días 7 y 112, durante las fechas intermedias se observan variaciones altas pero que se encuentran dentro del rango normal (Fig 10).

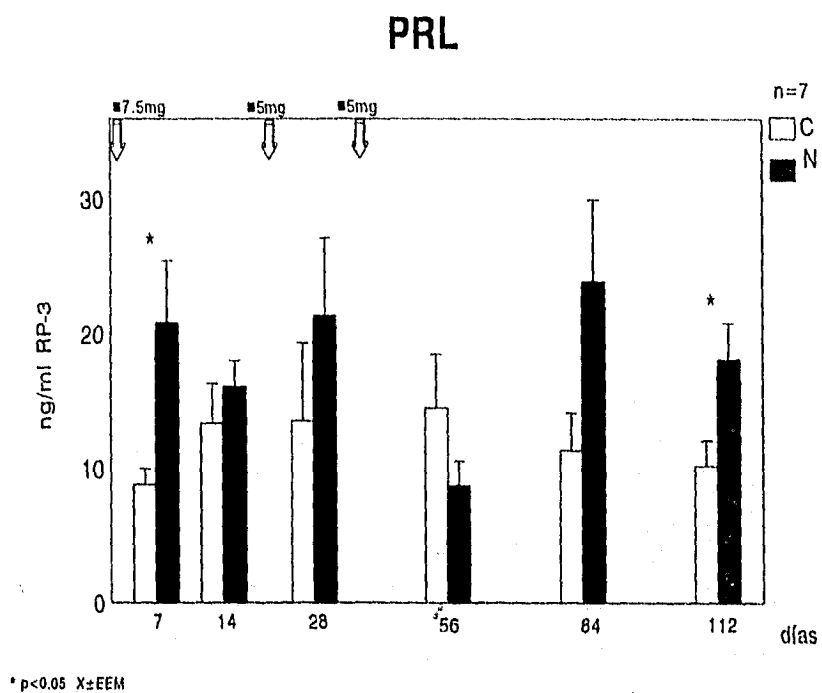


Figura 10. Concentraciones de PRL en suero de ratas macho controles (C) y nefróticas (N), en los diferentes días estudiados. Las flechas indican las aplicaciones y dosis de ANP por 100 g de peso (■), en los días 0, 21 y 35.

El registro del peso corporal de los grupos nefróticos y controles se muestra en la figura 11. El peso corporal se mantuvo significativamente por debajo de los grupos control a lo largo del estudio, esta diferencia podría ser aún mayor dada la presencia de líquido de ascitis en los animales nefróticos, ya que este alcanzó un volumen promedio de 20-50 mL.

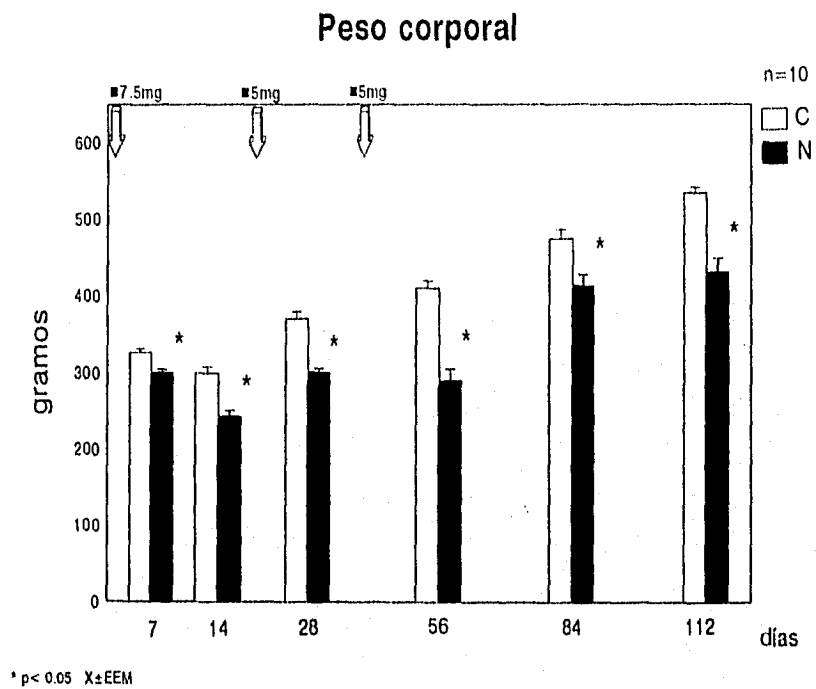


Figura 11. Peso corporal de ratas macho controles (C) y nefróticas (N), en los diferentes días estudiados. Las flechas indican las aplicaciones y dosis de ANP por 100 g de peso (■), en los días 0, 21 y 35.

Los cambios registrados durante todo el estudio en los pesos de los tejidos andrógeno-dependientes y andrógeno-sensibles corregidos en base al peso corporal, se presentan en la figura 12. El efecto de las variaciones en los andrógenos sobre la próstata ventral en animales con SN crónico resultó en una disminución significativa con respecto al peso del tejido control en los días 7, 14 y 112. El peso de la vesícula seminal de los animales nefróticos, disminuyó significativamente en los días 7, 14 y 56. El peso testicular mostró una tendencia al aumento durante todo el estudio sin ser estadísticamente significativo.

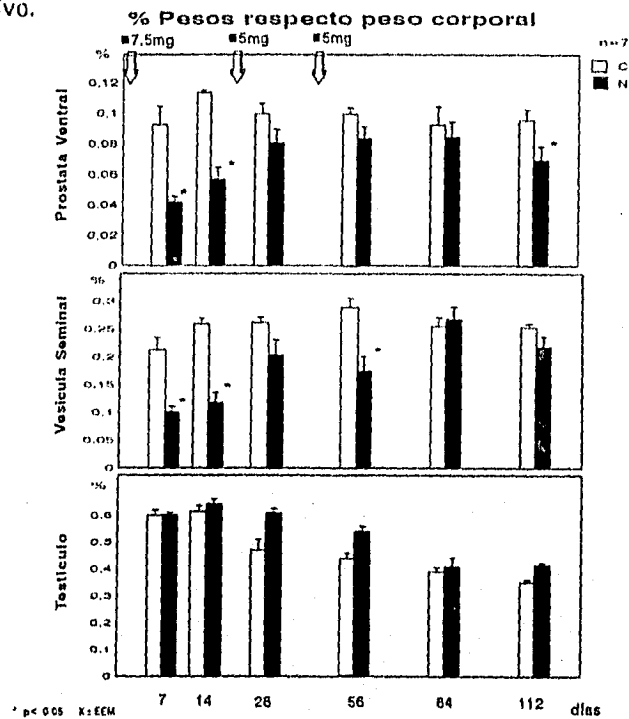


Figura 12. Porcentaje promedio de los pesos de próstata ventral, vesícula seminal y testículo respecto del peso total de cada grupo de animales controles (C) y nefróticos (N), en los diferentes días estudiados. Las flechas indican las aplicaciones y dosis de ANP por 100 g de peso (■), en los días 0, 21 y 35.

Los resultados del estudio en la capacidad reproductiva en la rata con SN crónico se presentan en la tabla 2. Los resultados de esta evaluación, medida en base en la tasa de fertilidad (número de hembras preñadas por rata macho con SN crónico) y expresada como el porcentaje de fertilización de ratas nefróticas, muestra que durante el SN crónico, el porcentaje de fertilidad disminuyó a cero en el día 7 posterior a la primera aplicación del ANP y a un 16% en el día 14, y se restableció completamente a partir del día 28, aún después de la segunda y tercera dosis del ANP. La tabla muestra además, las siguientes características: el número de productos promedio por camada, el porcentaje de sexo y el peso al día del destete, las cuales se mantuvieron sin cambio en todas las camadas evaluadas.

Tabla 2.

Función reproductiva en ratas con síndrome nefrótico crónico							
	Proporción de fertilidad	Fertilidad %	Productos <sup>a</sup> N°	Sexo % H M		Peso <sup>b</sup> g	
Día 7	Nefrótica	0/7	0	0	0	0	
	Control	7/7	100	11 ± 4	54	46	35 ± 6
Día 14	Nefrótica	1/7	16	10 ± 0	40	60	55 ± 3
	Control	8/7	71	12 ± 3	47	53	49 ± 6
Día 28	Nefrótica	6/7	85	10 ± 3	49	51	50 ± 3
	Control	5/7	71	12 ± 2	43	57	51 ± 4
Día 56	Nefrótica	6/7	85	10 ± 3	51	49	51 ± 3
	Control	6/7	85	12 ± 3	46	54	46 ± 3
Día 84	Nefrótica	6/7	85	11 ± 1	50	50	49 ± 5
	Control	7/7	100	10 ± 3	47	53	50 ± 3
Día 112	Nefrótica	6/7	85	12 ± 2	50	50	47 ± 5
	Control	6/7	85	11 ± 1	49	51	49 ± 3

<sup>a</sup> = promedio ± SD    <sup>b</sup> = peso 30 días después de nacidos

## DISCUSION

Los resultados del presente estudio aportan evidencias claras de alteraciones endocrinas reproductivas en la rata macho con síndrome nefrótico crónico inducido por ANP. Los principales cambios encontrados a lo largo de 112 días de estudio, se refieren básicamente a la pérdida de los mecanismos de control del eje hipotálamo-hipófisis-testículo y sus efectos sobre la capacidad de fertilización.

Se logró instalar de manera crónica el SN mediante un esquema de administración de ANP en los días 0, 21 y 35 en dosis de 7.5, 5 y 5 mg/100 g de peso. Las características bioquímicas de proteinuria e hipercolesterolemia, se mantuvieron durante 112 días, mientras que la hipoproteinemia se presentó únicamente durante el primer mes del estudio. Dado que la característica básica del SN es la proteinuria consideramos que el SN se mantuvo por 112 días, además de que recientemente se ha sugerido que en los estadios crónicos del padecimiento, el hígado presenta un aumento en la síntesis de proteínas para compensar la deficiencia de proteínas circulantes (datos aún no publicados por el Dr. José Pedraza). Por otra parte, la concentración de creatinina circulante fue menor a 1 mg/dl en todas las muestras, indicando que el SN no progresa, en éste esquema, a insuficiencia renal en los 112 días evaluados.

El efecto en el desarrollo del SN crónico sobre ambas gonadotropinas hipofisarias fue semejante al inicio del estudio, tanto LH como FSH disminuyeron significativamente el día 7, indicando que la respuesta aguda a la primera inyección de ANP afecta igualmente a ambos péptidos. Los resultados en las fechas subsecuentes presentaron una respuesta paralela para ambos péptidos, aunque una significancia estadística diferente. La FSH disminuyó claramente en los días 14 y 28, para mantenerse dentro del rango normal por el resto del estudio, mientras que LH aumentó por encima de los valores control a partir del día 56. Si bien la principal regulación por retroalimentación de la secreción de gonadotropinas está mediada por la acción de los esteroides gonadales en los niveles hipotalámicos e hipofisarios, también se conoce que la inhibina inhibe de manera preferencial la secreción de FSH. Así, las diferentes respuestas hipofisarias encontradas pudieran bien explicarse por los diferentes mecanismos regulatorios que se sabe controlan ambas gonadotropinas (83). El contenido de ácido siálico de las hormonas glicoproteicas varía de cinco residuos en FSH a sólo uno o dos para LH. Estas diferencias son en gran medida responsables de las actividades biológicas de las gonadotropinas, cuyas potencias pueden distinguirse en base a las variaciones de los puntos isoeléctricos (pI) que varían de 4.5 a 5 para FSH y 6 a 10 para LH (84). Es posible que en el SN exista un daño que involucre los mecanismos de glicosilación específicos para cada hormona (85) y que de esta manera afecte sus vidas medias y en consecuencia las actividades biológicas. Esta hipótesis está apoyada por el hecho de que en otro padecimiento renal, la insuficiencia renal crónica, existen alteraciones que involucran tanto la cantidad de LH



liberada por la hipófisis, así como la pulsatilidad y la vida media de ésta hormona (86).

La actividad gonadal, evaluada en base a las concentraciones circulantes de T y E<sub>2</sub>, se alteró a lo largo de los 112 días. Ambos esteroides sexuales disminuyeron significativamente en todas las fechas con excepción del día 56 en que sus valores fueron normales y el día 112 en el que la T se vio aumentada, aunque no de manera significativa. En base a estos resultados es clara la persistencia de hipogonadismo en los machos con SN crónico, lo que sugiere fuertemente que la actividad esteroideogénica gonadal se encuentra alterada, más aún en presencia de concentraciones de LH normales o por encima de los valores controles, lo cual pudiera indicarnos, dado que ambos esteroides disminuyen en paralelo, que existe un daño en un mecanismo común, el cual pudiera involucrar a los receptores para gonadotropinas en el testículo. Específicamente en las células de Leydig, la falla en la activación vía LH redundaría en inactivación de las enzimas esteroideogénicas, principalmente la que constituye el paso limitante de esta ruta, la P450<sub>scc</sub> (87), lo que conduciría a una disminución de todos los esteroides sintetizados por las gónadas. Sin embargo, debido a la pérdida de minerales como Cu y Zn en este modelo experimental (66), no se puede descartar una falla enzimática generalizada por falta de cofactores de las enzimas esteroideogénicas. Los datos presentados, indican una disminución de los efectos de retroalimentación negativo que a nivel hipotalámico-hipofisario tienen los esteroides gonadales. Lo anterior sugiere un daño complejo que involucra adicionalmente la unidad hipotalámica-hipofisaria.

En la búsqueda de factores responsables del hipogonadismo-hipogonadotrópico, se midieron las concentraciones de PRL circulantes y se encontró que a diferencia de la insuficiencia renal crónica, en la que es característica la hiperprolactinemia permanente (88), en el SN crónico, los valores de PRL aumentan solamente al inicio del padecimiento y en la última fecha monitoreada. La elevación inicial podría ser una respuesta aguda producida por factores que se sabe acompañan al SN, tales como el hipotiroidismo (89), el cual conduce a un aumento de TRH (hormona tiroidea) y este es un factor estimulador de la síntesis de PRL a nivel hipofisario. Respecto al incremento de PRL en el día 112, este resultado podría ser interpretado como un indicio que señale que el SN crónico ha degenerado a la insuficiencia renal, lo cual se asemejaría al proceso natural que presenta este padecimiento en el humano (51).

En concordancia con la disminución en la tasa de crecimiento reportada en la literatura tanto para humanos como para modelos experimentales con SN (90), los animales con SN crónico tuvieron un crecimiento significativamente menor en todas las fechas evaluadas. Razón por la cual los pesos de los tejidos andrógeno sensibles y/o dependientes se corrigieron en base al peso corporal total. De esta manera, fue posible clarificar si la disminución de los andrógenos circulantes tuvo un efecto significativo real sobre la próstata ventral, la vesícula seminal y el testículo. Los resultados presentados en este estudio, muestran que la disminución en la testosterona afectó el peso de la próstata y vesícula en los primeros quince días del estudio y posteriormente no hubo correlación

entre la concentración de la hormona y el peso de los tejidos andrógeno dependientes. Es necesario aclarar que existen otros andrógenos potentes como la 5 $\alpha$ -DHT, cuyo precursor es la testosterona que pudieran estar interviniendo para mantener la integridad de estos tejidos. Además, otro factor que pudiera estar involucrado en la recuperación y mantenimiento del peso de los tejidos dependientes de andrógenos estaría dado por un incremento en la síntesis de receptores para andrógenos en éstos tejidos, lo cual los haría más sensibles a los andrógenos circulantes. El peso testicular no presentó disminución alguna en los 112 días sino que al contrario, se observó una tendencia al aumento, que bien pudiera ser resultado del edema generalizado que se presentó en los primeros dos meses de estudio.

Finalmente, cuando se estudio el efecto de las alteraciones endocrinas sobre la función reproductiva en el SN crónico, se encontró que la capacidad de fertilización de los animales machos nefróticos, únicamente se ve afectada de manera transitoria en la fase inicial del síndrome crónico (días 7 al 14). El que la función reproductiva se preserve puede deberse al bajo umbral de T necesario para mantener la espermatogénesis (91), sin embargo, el mantenimiento de la conducta sexual en condiciones de hipogonadismo en los machos nefróticos, se contrapone a los dogmas básicos de la regulación de la conducta sexual vía T y E<sub>2</sub> (92). Esta evaluación indica que la función reproductiva tiene una capacidad altamente conservada, que se preserva a pesar de las condiciones endocrinas adversas existentes para preservar las especies.

entre la concentración de la hormona y el peso de los tejidos andrógeno dependientes. Es necesario aclarar que existen otros andrógenos potentes como la 5 $\alpha$ -DHT, cuyo precursor es la testosterona que pudieran estar interviniendo para mantener la integridad de estos tejidos. Además, otro factor que pudiera estar involucrado en la recuperación y mantenimiento del peso de los tejidos dependientes de andrógenos estaría dado por un incremento en la síntesis de receptores para andrógenos en éstos tejidos, lo cual los haría mas sensibles a los andrógenos circulantes. El peso testicular no presentó disminución alguna en los 112 días sino que al contrario, se observó una tendencia al aumento, que bien pudiera ser resultado del edema generalizado que se presentó en los primeros dos meses de estudio.

Finalmente, cuando se estudio el efecto de las alteraciones endocrinas sobre la función reproductiva en el SN crónico, se encontró que la capacidad de fertilización de los animales machos nefróticos, únicamente se ve afectada de manera transitoria en la fase inicial del síndrome crónico (días 7 al 14). El que la función reproductiva se preserve puede deberse al bajo umbral de T necesario para mantener la espermatogénesis (91), sin embargo, el mantenimiento de la conducta sexual en condiciones de hipogonadismo en los machos nefróticos, se contrapone a los dogmas básicos de la regulación de la conducta sexual vía T y E<sub>2</sub> (92). Esta evaluación indica que la función reproductiva tiene una capacidad altamente conservada, que se preserva a pesar de las condiciones endocrinas adversas existentes para preservar las especies.

El conjunto de datos analizados nos llevan a concluir que el SN crónico cursa con disfunción en el eje hipotálamo-hipófisis-gónada de manera similar al SN en fase aguda (81). Las funciones primordiales para el mantenimiento de la capacidad reproductiva parecen adaptarse, de tal manera que aunque la disfunción del eje reproductor se observó durante todo el estudio, el peso de los tejidos sensibles a andrógenos y la fertilidad sólo se afectaron significativamente durante la instalación crónica del síndrome.

La compleja disfunción endocrina encontrada no nos permite aportar una explicación única o simple del daño, por lo que será necesaria una evaluación posterior de los mecanismos regulatorios involucrados.

## CONCLUSIONES

El presente estudio aporta datos que nos permiten concluir lo siguiente:

- Existe disfunción endócrina en la rata macho con SN crónico que altera significativamente la función del eje hipotálamo-hipófisis-testículo.
- Las principales manifestaciones de la disfunción endócrina encontrada son: la pérdida de los mecanismos de control entre péptidos hipofisarios y esteroides gonadales.
- La disfunción endócrina en la rata con SN crónico afecta sólo de manera transitoria la función reproductiva.

## BIBLIOGRAFIA

- 1.- Joseph-Bravo P, Uribe RM, Charli LJ. Biosíntesis de neuropéptidos y su regulación. En: Comunicación neuroendócrina. Bases celulares y moleculares. Sociedad Mexicana de Ciencias Fisiológicas pp 15-32, 1993.
- 2.- Berridge M. The molecular basis of communication within the cell. *Sci Am* 253: 142-150, 1985.
- 3.- Pienta KJ, Partin AW, Coffey DS. Cancer as disease of DNA organization and dynamic cell structure. *Cancer Res* 49: 2525-2531, 1989.
- 4.- Codwñ EA, Ratcliff WA, Ratcliffe JG, Kennedy AC. Hypothalamic-pituitary function in uraemia. *Acta Endocrinol (Copenh)* 98: 488-494, 1981.
- 5.- Czernichow P, Dauzet MC, Broyer M, Rappaport R. Abnormal TSH, PRL and GH responses to TSH releasing factor in chronic renal failure. *J. Clin Endocrinol Metab* 43:630-637, 1976.
- 6.- Gomez-PAN A, Alvarez-Ude F, Yeo PPB, Hall R, Evered DC, Kerr DNS. Function of the hipotalamo-hypophyseal thyroid axis in chronic renal failure. *Clin Endocrinol* 11:567-574, 1979.
- 7.- Veldhuis JD, Iranmanesh, Wolkowski MJ, Samojlik E. Neuroendocrine alterations in the somatotropic and lactotropic axes in uremic men. *Eur J Endocrinol* 131:489-498, 1994.
- 8.- Bergland R, Page R. Does the pituitary secrete to the brain? (affirmative anatomical evidence in 9 species). *Endocrinology* 102:1325-1328, 1978.
- 9.- Hazun E, Conn PM. Molecular mechanism of gonadotropin releasing hormone (GnRH) action: 1. The GnRH receptor. *Endocr Rev* 9: 379-383, 1988.
- 10.- Conn PM. The molecular basis of gonadotropin-releasing hormone action. *Endocr Rev* 7:3-10, 1986.
- 11.- Berridge MJ, Irvine RF. Inositol phosphates and cell signalling. *Nature* 341:197-205, 1989.
- 12.- Matsuo H, Baba Y, Nair RM, Arimura A, Schally AV. Structure of the porcine LH-and FSH- releasing hormone: I. The proposed amino acid sequence. *Biochem Biophys Res Commun* 43:1334-1340, 1971.

- 13.- King JA, Hassan MF, Mehl AE, Millar RP. Gonadotrophin-releasing hormone molecular forms in mammalian hypothalamus. *Endocrinology* 122:2742-2752, 1988.
- 14.- King JC, Anthony ELP. LHRH neurons and their projections in humans and other mammals species comparison. *Peptides* 5:197-202, 1984.
- 15.- Knobil E. The electrophysiology of GnRH pulse generator. *J Steroid Biochem* 33:669-674, 1989.
- 16.- Veldhuis JD, Johnson ML, Dufau ML. Physiological attributes of endogenous bioactive luteinizing hormone secretory bursts in man: As cycle and after ovariectomy, as estimated with push-pull cannulae. Endocessment by deconvolution analysis and in vitro bioassay of LH. *Am J Physiol* 256:E199-E204, 1989.
- 17.- Clarke IJ, Cummins JT. The temporal relationship between gonadotrophin releasing hormone (GnRH) and luteinizing hormone (LH) secretion in ovariectomized ewes. *Endocrinology* 111:1737-1739, 1982.
- 18.- Ackland JF, Nikolics K, Seeburg P, Jackson IMD. Molecular forms of gonadotrophin-releasing hormone associated peptide (GAP): Changes within the rat hypothalamus and release from hypothalamic cells in vitro. *Neuroendocrinology* 48:376-381, 1988.
- 19.- Rotszjen WH, Charli JL, Pattou E, Epelbaum J, Kordon C. In vitro release of luteinizing hormone-releasing hormone (LHRH) from rat mediobasal hypothalamus: effects of potassium, calcium and dopamine. *Endocrinology* 99:1663-1666, 1976.
- 20.- Valencia MM, Conte D, Negro-Vilar A. Diacylglycerol and phorbol esters enhance LHRH and prostaglandin E<sub>2</sub> secretion from median eminence nerve terminals in vitro. *Brain Res Bull* 15:657-659, 1985
- 21.- Gherib SD, Wierman ME, Shupnik MA, Chin WW. Molecular biology of pituitary gonadotrophins. *Endocr Rev* 11:177-182, 1990.
- 22.- Fink G. Feedback actions of of target hormones in hypothalamus and pituitary with special reference to gonadal steroids. *Annu Rev Physiol* 41:571-585, 1979.
- 23.- Marschall JS, Kelch RP. Gonadotrophin-releasing hormone: role of pulsatile secretion in the regulation of reproduction. *N Engl J Med* 315:1459-1468, 1986.
- 24.- Charli J, Ponce G, Joseph-Bravo P. Los mecanismos de regulación de la actividad de las neuronas LHRH-érgicas hipotalámicas. En *Tópicos Selectos de Biología de la Reproducción*. ed. Domínguez Casalá. Ed. UNAM -Porrúa, 59-83, 1991.
- 25.- Kalra PS, Simpkins JW. Testosterone raises LHRH levels exclusively in the media eminence of castrated rats. *Neuroendocrinology* 39:45-48, 1984.



- 26.- Reyes-Fuentes A, Chavarria-Olarte ME, Martínez-Zaguilán RI. Bioquímica del tracto genital masculino. La investigación de la reproducción en el Instituto Mexicano del Seguro Social. *Gac Med Mex* 119:4:139-145, 1983.
- 27.- Dufau ML, Veldhuis J, Fraieli F, Johnson MH, Catt KJ. Mode of bioactive LH secretion in man. *J Clin Endocrinol Metab* 57:993-1003, 1983.
- 28.- Hall PF, Eik-Nes KB. The action of gonadotropic hormones upon rabbit testis in vitro. *Biochim Biophys Acta* 63:411-419, 1962.
- 29.- Eik-Nes KB. Biosynthesis and secretion of testicular steroids. En: *Handbook of Physiology*. Greep RO y Astwood EB. (Eds) Washington, American Physiological Society. V:V 95, 1975.
- 30.- Burtein S, Middleditch BS, Gut M. Mass spectrometric study of the enzymatic conversion of cholesterol to (22R)-22 hidroxycholesterol, (20R,22R)-20,22-dihidroxycholesterol to the glycol and pregnenolone in bovine adrenocortical preparation *J Biol Chem* 250:9028-9037, 1975.
- 31.- Menon KLJ, Dorfman RI, Forchielli E. Influence of gonadotrophins on the cholesterol-side chain cleavage reaction by rat-testis mitochondrial preparations. *Biochem Biophys Acta* 148:486-494, 1967.
- 32.- Dufau ML, Tsuruhara T, Horner KA, Podesta E, Catt KL. Intermediate role of adenosine 3',5'-cyclic monophosphate and protein kinase during gonadotrophin induced steroidogenesis in testicular interstitial cell. *Proc Natl Acad Sci USA* 74:3419-3423, 1977.
- 33.- Miller NE, Yin JA. Effects of cytochalasin B on low density lipoproteins metabolism by cultured human fibroblast. *Biochem Biophys Acta* 530:145-150, 1978.
- 34.- Mendelson C, Dufau ML, Catt KJ, Gonadotrophin binding and stimulation of cyclic adenosine 3'5'-monophosphate and testosterone production in isolated Leydig cell. *J Biol Chem* 250:8818-8823, 1975.
- 35.- Stadel JM, De Lean A, Lefkowitz RJ. Molecular mechanism of coupling in hormone receptor-adenylate cyclase systems. *Adv Enzy Mol* 53:1-43, 1982.
- 36.- Purvis K, Hansson V. Hormonal regulation of spermatogenesis: Regulation of target cell response. *Int J Androl* 3 (Suppl):81-143, 1981.
- 37.- Means AR, Welsh MJ, Dedman JR, Tash JS. FSH stimulation of protein kinase inhibitor: regulation of cellular metabolism. *Adv Cyclic Nucl Res* 12:373-385, 1980.

- 38.- Griffin JE, Wilson JD. Disorders of the testes and the male reproductive tract. En: Williams Textbook of Endocrinology, Wilson and Foster eds. 799-838, 1992.
- 39.- Hammond GL, Ruokonen A, Kontturi M. The simultaneous radioimmunoassay of seven steroids in human spermatic and peripheral venous blood. *J Clin Endocrinol Metab* 45:16-24, 1977.
- 40.- Gwynne JT, Strauss JF III. The role of lipoproteins in steroidogenesis and cholesterol metabolism in steroidogenic glands. *Endocr Rev* 3:299-304, 1982.
- 41.- Loza Arredondo, Lemus AE, Pérez-Palacios G. Metabolismo de hormonas esteroides. En: *Bioquímica e Inmunología II*, Hicks Gómez J y Díaz Zagoya J. ed, Piensa 53-93, 1988.
- 42.- Mason JI, Estabrook RW, Purvis JL. Testicular cytochrome P-450 and iron-sulfur protein as related to steroid metabolism. *Ann NY Acad Sci* 212:406-419, 1973.
- 43.- French FS, Lubahn DB, Brown TR, Simental JA, Quigley CA, Yarbrough WG, Tan J-A, Sar M, Joseph DR, Evans BAJ, Hughes IA, Migeon CJ, Wilson EM. Molecular basis of androgen insensitivity. *Rec Prog Horm Res* 46:1-42, 1990.
- 44.- Tilley WD, Marcelli M, Wilson JD, Pc Phaul MJ. Characterization and expression of cDNA encoding the human androgen receptor. *Proc Natl Acad Sci-USA* 86:327-331, 1989.
- 45.- Brown CJ, Goss SJ, Lubahn DB, Joseph DR, Wilson EM, French FS, Willard HF. Androgen receptor locus on the human X chromosome: Regional localization to Xq11-12 and description of a DNA polymorphism. *Am J Hum Genet* 44:264-670, 1989.
- 46.- Giguere V, Yang N, Segui P, Evans RM. Identification of a new class of steroid hormones receptors. *Nature* 331:91-97, 1988.
- 47.- Evans RM. The steroid and thyroid hormone receptor super family. *Science* 249: 889-905, 1988.
- 48.- Pratt WP, Repmond T, Sánchez ER. Speculations on the role of the 90kD heat shock protein in glucocorticoid receptor transport and function. En: Carlssted-Duke J, Eriksson H, Gustafsson J-A. the steroid / thyroid hormone receptor family and gene regulation. Birkhauser Verlag. Basel 109-126, 1989.
- 49.- Lubahn DB, Joseph DR, Sar M, Tan J, Higgs H, Larson RE, French FS, Wilson EM. The human androgen receptor: complementary deoxyribonucleic acid cloning, sequence analysis and gene expression in prostate. *Mol Endocrinol* 2:1265-1275, 1988.

- 878 100 1000  
1000 1000 1000
- 50.- Quarmby VE, Yarbrough WG, Lubahn DB, French FS, Wilson EM. Autologous down-regulation of androgen receptor messenger ribonucleic acid. *Mol Endocrinol* 4:22-28, 1990
  - 51.- Glasscock RJ, Brenner BM. Glomerulopatías importantes. En: *Principios de medicina interna* (ed. Harrison T.R.); 2277-2290, 1986.
  - 52.- Kefalides NA. Structure and biosynthesis of basement membranes. *Int Rev Connect Tissue Res* 6:63-104, 1973.
  - 53.- Karnovsky MJ. The ultrastructure of glomerular filtration. *Annu Rev Med* 30:213-224, 1979.
  - 54.- Kanwar YS, Farquhar MG. Presence of heparan sulfate in the glomerular basement membrane. *Proc Natl Acad Sci USA* 76:1303-1307, 1979.
  - 55.- Hovart R, Hovorka A, Dekan G, Poczawiski H, Kerjaschki D. Endothelial cell membranes contain podocalyxin the major sialoprotein of visceral glomerular epithelial cells. *J Cell Biol* 102:484-491, 1986.
  - 56.- Bohrer MP, Baylis V, Humes HD, Glasscock RJ, Robertson CR, Brenner BM. Permeability of the glomerular capillary wall. Facilitated filtration of circulating polycations. *J Clin Invest* 61:72-78, 1978.
  - 57.- Amato D, Pedraza-Chaverri J, Herrera-Acosta J. Fisiopatología del síndrome nefrótico. En: *Tratado de nefrología*. Martínez-Maldonado M, ed. Ediciones Norma, Madrid. 685-694, 1993.
  - 58.- Valtin H. Glomerular filtration. En: *Renal function*, Valtin H. eds. Cap 3, Ed Little, Brown, USA, 1993.
  - 59.- Brenner BM, Coe F, Rector FC. Structure and function of the renal circulations. En: *Renal physiology in health and disease*. Brenner BM, Coe F, Rector F. eds. Philadelphia: WB Saunders Co., 1987.
  - 60.- Pedraza-Chaverri J, Calderón P, Cruz C, Peña JC. Electrophoretic analysis of serum and urinary proteins in rats with aminonucleoside-induced nephrotic syndrome. *Renal Failure* 15:149-155, 1993.
  - 61.- Yamauchi A, Imai E, Noguchi T, Takana T, Yamamoto S, Mikami H. Albumin gene transcription is enhanced in liver of nephrotic rats. *Am J Physiol* 254:E676-E679, 1988.
  - 62.- Pedraza-Chaverri J, Huberman A. Actinomycin D blocks the hepatic functional albumin mRNA increase in aminonucleoside-nephrotic rats. *Nephron* 59:648-650, 1991.

- 63.- Habib R, Kleinknecht C. The primary nephrotic syndrome of childhood. Classification and clinicopathologic study of 406 cases. En: Sommers SC, eds. Pathology Annual. N.Y: Appleton-Century-Crofts 417-474, 1971.
- 64.- Golper TA, Schwartz SH. Impaired renal mevalonate metabolism in nephrotic syndrome: a stimulus for increased hepatic cholesterologenesis independent of GFR and hypoalbuminemia. Metabolism 31:471-475, 1982.
- 65.- Alfrey AC, Hammond WS. Renal iron handling in the nephrotic syndrome. Kidney Int 37:1409-1413, 1990.
- 66.- Pedraza-Chaverri J, Torres-Rodríguez A, Cruz C, Mainero A, Tapia E, Ibarra-Rubio M, Silencio JL. Copper and zinc metabolism in aminonucleoside-induced nephrotic syndrome. Nephron 66:87-92, 1992.
- 67.- Cruz C, Juárez Nicolás F, Tapia E, Correa-Rotter R, Pedraza Chaverri J. Abnormalities of coagulation in experimental nephrotic syndrome. Nephron 68:489-496, 1994.
- 68.- Hoyer JR. Idiopathic nephrotic syndrome with minimal glomerular changes. En: Brenner BM, Stein JH, eds. The nephrotic syndrome. cap 6, N.Y: Churchill Livingstone, pp 145-173, 1982.
- 69.- Silva FG, Hogg RJ. Minimal change nephrotic syndrome-focal sclerosis complex (including IgM Nephropathy and diffusa mesangial hypercellular. En: Craig Tisher C, B M Brenner BM, eds. Renal pathology. Philadelphia: JB Lippincott Co, 265-339, 1989.
- 70.- Hoedemaeker J. Experimental glomerulonephritis. En: Davidson Am eds. Nephrology Vol. I Xth Int. Congress of Nephrology. Cambridge: University Press, 409-440, 1988.
- 71.- Bertani T, Rocchi G, Mecca G, Sacchi G, Remuzzi G. Adriamycin induced chronic proteinuria: A new model of glomerular focal sclerosis. Kidney Int 23:192, 1983.
- 72.- Nagasawa HT, Swingle KF, Alexander CS. Metabolism of aminonucleoside-8-<sup>14</sup>C in the rat and guinea pig. Biochem Pharmacol 16:2211-2219, 1967.
- 73.- Borowky BA, Kessner DM, Recant L. Structural analogues of puromycin in production of experimental nephrosis in rats. Proc Soc Exp Biol Med 97:857-860, 1958.
- 74.- Rabinovitz M, Fisher JM. A dissociative effect of puromycin on the pathway of protein synthesis by Erlich ascites tumor cells. J Biol Chem 23:477-481, 1962.
- 75.- Dickie N, Alexander CS, Nagasawa HT. Inhibition of nucleic acid synthesis in Escherichia coli B by puromycin aminonucleoside. Biochim Biophys Acta 95:156-169, 1965.

- 76.- Frenk S, Antonowics VM, Craig JM, Metcalf J. Experimental nephrotic syndrome induced in rats by puromycin aminonucleoside. Renal lesions and body electrolytes composition. *Proc Soc Exp Biol Med* 89:424-427, 1955.
- 77.- Diamond JR, Bonventre JV, Karnovsky. A role for oxygen free radicals in aminonucleoside nephrosis. *Kidney Int* 29:478-483, 1986.
- 78.- Pedraza-Chaverri J, Arévalo AE, Hernández-Pando R, Larriva-Sahd J. Effect of dietary antioxidants on puromycin aminonucleoside nephrotic syndrome. *Int J Cell Biol* 27:683-691, 1995.
- 79.- Glass AR, Beach J, Vigersky RA. Hypogonadotropic hypogonadism in nephrotic rats: increased sensitivity to negative feedback effects of testosterone. *Metabolism* 34:574-579, 1985.
- 80.- Elias AN, Carreon G, Vaziri ND, Pandian MR, Oveisi F. The pituitary-gonadal axis in experimental nephrotic syndrome in male rats. *J Lab Clin Med* 120:949-954, 1992.
- 81.- Menjívar M, Vilchis F, Cárdenas M, Cruz C, Merchant H, Pérez-Palacios G, Pedraza-Chaverri J. Pituitary-ovarian dysfunction in rats with induced nephrotic syndrome. *Eur J Endocrinol* 132:502-506, 1995.
- 82.- Pedraza-Chaverri J, Cruz C, Ibarra-Rubio ME, Chávez T, Calleja C, Tapia E, Uribe C, 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* 42: 28-38, 1990.
- 83.- Chappel SC, Ulloa-Aguirre A, Coutifaris C. Biosynthesis and secretion of follicle-stimulating hormone. *Endocr Rev* 9:267-293, 1988.
- 84.- Wilson CA, Leight AJ, Chamman AJ. Gonadotrophin glycosylation and function. *J Endocrinol* 125: 3- 14 , 1990.
- 85.- Ulloa-Aguirre A, Damián-Matsumura P, Jiménez M, Zambrano E, Díaz-Sanchez V. Biological characterization of the isoforms of urinary human follicle-stimulating hormone contained in a purified commercial preparation. *Hum Reprod* 7:1371-1378, 1992.
- 86.- Veldhuis JD, Wilkowski MJ, Zwart AD, Urban RJ, Lizarralde G, Iranmanesh A, Bolton W. Evidence for attenuation of hypothalamic gonadotropin-releasing hormone (GnRH) impulse strength with preservation of GnRH pulse frequency in men with chronic renal failure. *J Clin Endocrinol Metab* 76:648-654, 1993.

- 87.- Omura T, Morohashi K. Gene regulation of steroidogenesis. *J Steroid Biochem Mol Biol* 53:19-25, 1995.
- 88.- Handelsman DJ. Hypothalamic-pituitary gonadal dysfunction in renal failure, dialysis and renal transplantation. *Endocr Rev* 6:151-182, 1985.
- 89.- Glass AR, Vigersky RA, Rajatanavin R, Partridge W, Smallridge RC, Wartofsky L, Burman K. Low serum thyroxine and high serum triiodothyronine in nephrotic rats: etiology and implications for bioavailability of protein-bound hormone. *Endocrinology* 114:1745-1753, 1984.
- 90.- Trachtman H, Maesaka J, Futterweit S, Ma C, Valderrama E, Chan JCM, Chan W. The effect of recombinant human insulin-like growth factor-I on chronic puromycin aminonucleoside nephropathy in rats. *Pediatr Res* 39:13-19, 1996.
- 91.- Buhl AE, Cornette JC, Kirton KT, Yuan YD. Hypophysectomized male rats treated with polydimethylsiloxane capsules containing testosterone: effect on spermatogenesis, fertility, and reproductive tract concentrations androgens. *Biol Reprod* 27:183-187, 1982.
- 92.- Beyer C, Larsson K, Pérez-Palacios G, Morali G. Androgen structure and male sexual behavior in castrated rats. *Horm Behav* 4:99-108, 1973.

**XXXV REUNION ANUAL  
SOCIEDAD MEXICANA DE NUTRICION Y ENDOCRINOLOGIA A. C.**

**ESTUDIO DE LA FUNCION HORMONAL REPRODUCTIVA DE LA RATA CON SINDROME NEFROTICO CRONICO.** Oriit Guadalupe\* (presentada por Ulloa-Aguirre Alfredo), Vilchis Felipe\*, Cárdenas Mario\*, Cruz Cristino\*\*, Pedraza-Chaveril José\*\*, Menjivar María\*, Depto. Biología de la Reproducción y Nefrología del Instituto Nacional de la Nutrición Salvador Zubiran y \*Depto. Biología, Facultad de Química, UNAM.

El síndrome nefrótico (SN) es un padecimiento renal en el que se ve alterada la función endocrina reproductiva; y que se presenta con estadios agudos repetitivos que degeneran en la instalación crónica del síndrome nefrótico. A pesar de que nuestro grupo ha establecido la existencia de disfunción en el eje hipotálamo-hipofisis-gónada en ratas macho y hembras con SN en fase aguda, las alteraciones endocrinas en el estadio crónico son aun desconocidas. Por lo tanto el objetivo del presente trabajo fue estudiar las alteraciones que sobre el eje hipotálamo-hipofisis-testículo se presenta en el SN crónico. El SNC se estudió por un periodo de 84 días y se indujo en las ratas machos con tres inyecciones de aminocaproilato de puromicina (ANP) en los días 0, 21 y 35 en dosis de 7.5, 5 y 5 mg/100 g de peso respectivamente. La función endocrina reproductiva se evaluó en los días 7, 14, 28, 56 y 84 del estudio en base a las cuantificaciones de hormona luteinizante (LH), hormona folículo estimulante (FSH), testosterona (T) y estradiol (E<sub>2</sub>), el peso de los tejidos andrógeno dependientes (próstata ventral y vesícula seminal) y la capacidad reproductiva en grupos de 7 ratas nefróticas y 7 controles intactas. En las fechas establecidas se colectaron muestras de suero y orina de 24 h, se registró el peso de los tejidos andrógeno dependientes y se realizaron montas con ratas hembras que presentaron al menos tres ciclos estrales consecutivos. Se determinó por método colorimétrico, proteínas totales y colesterol en suero y proteínas en orina, se cuantificó por radioinmunoanálisis en suero LH, FSH, T y E<sub>2</sub>. Los resultados muestran la instalación del SN de manera crónica durante los 112 días del estudio con sus características de proteinuria, hipoproteinemia e hiperlipidemia. Las cuantificaciones hormonales muestran una disminución significativa de LH y FSH en los días 7, 14, 28, y 56 con una recuperación hacia el día 84 del estudio, las concentraciones de esteroides sexuales presentan una disminución significativa en los días 7, 14, 28, 56, y 84 (N.D. = no detectable).

**TRABAJO 117**

Días	7	14	28	56	84	Control
LH ng/ml	*0.132 ±0.048	*0.181 ±0.046	*0.06 ±0.037	*0.313 ±0.087	0.228 ±0.166	0.498 ±0.036
FSH ng/ml	*4.32 ±0.37	*6.57 ±0.70	*5.5 ±0.80	*4.98 ±1.28	9.05 ±1.14	8.58 ±0.35
T ng/ml	*0.38 ±0.20	*1.22 ±0.36	*0.40 ±0.19	*1.51 ±0.73	*1.93 ±0.49	3.78 ±0.17
E <sub>2</sub> ng/ml	*N.D.	*N.D.	*N.D.	*1.73 ±1.56	*2.23 ±0.89	12.23 ±0.96

La capacidad reproductiva se vio afectada únicamente en los primeros 14 días posteriores a la aplicación del ANP, recuperándose a nivel normal por el resto del estudio. Los resultados obtenidos hasta este momento nos permiten concluir que existen alteraciones en el eje hipotálamo-hipofisis-testículo en el SNC, que estas alteraciones se presentan paralelas a las manifestaciones características del SNC y tienen un efecto transitorio sobre la capacidad reproductiva de la rata macho.  
(Estudio apoyado por CONACYT, México, D.F.)