

00346



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA
DE MEXICO**

**FACULTAD DE CIENCIAS
DIVISION DE ESTUDIOS DE POSGRADO**

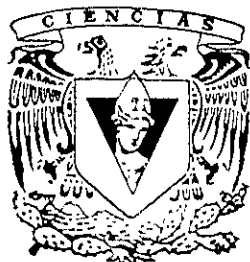
Estudio de las alteraciones endócrino-reproductivas
en la rata hembra con síndrome nefrótico crónico.

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL GRADO ACADEMICO DE
MAESTRO EN CIENCIAS
(BIOLOGIA CELULAR)

P R E S E N T A

BIOL. MARIO CARDENAS LEON



DIRECTORES DE TESIS: *DRA. MARTA ALICIA MENJIVAR IRAHETA*
DR. JOSE PEDRAZA CHAVERRI



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



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.

Este trabajo se llevó a cabo en el Laboratorio de Hormonas Proteicas del Departamento de Biología de la Reproducción, perteneciente al Instituto Nacional de la Nutrición Salvador Zubirán, bajo la dirección de la Dra. Marta Menjívar Iraheta y el Dr. José Pedraza Chaverrí.

A mi señora esposa Irene y a mi hijo Mario Alberto.

A mis padres Juana y José.

A los Doctores Marta Menjívar y José Pedraza por el gran apoyo e invaluable participación.

Al Dr. Fernando Larrea, jefe del Departamento de Biología de la Reproducción, por la facilidades otorgadas al realizar este trabajo de tesis. A los compañeros y compañeras de este departamento y en especial, del Laboratorio de Hormonas Proteicas.

INDICE

RESUMEN.

<i>INTRODUCCION.....</i>	<i>1</i>
El riñón.....	1
Síndrome nefrótico.....	4
a) <i>Fisiopatología</i>	
b) <i>Condición aguda y crónica</i>	
Aminonucleósido de puromicina y síndrome nefrótico experimental.....	8
Eje hipotálamo-hipófisis-ovario.....	9
Desarrollo folicular.....	12
Biosíntesis de hormonas esteroides en el ovario.....	16
Ciclo estral de la rata.....	18
<i>ANTECEDENTES.....</i>	<i>21</i>
<i>OBJETIVOS.....</i>	<i>24</i>
a) General	
b) Específicos	
<i>MATERIAL Y METODOS.....</i>	<i>25</i>
<i>RESULTADOS.....</i>	<i>30</i>
<i>DISCUSION.....</i>	<i>39</i>
<i>CONCLUSIONES.....</i>	<i>45</i>
<i>REFERENCIAS.....</i>	<i>46</i>

RESUMEN

El síndrome nefrótico (SN) se considera un padecimiento de alta incidencia entre los trastornos renales en el humano. Se caracteriza por proteinuria, hipoproteinemia e hiperlipidemia. En estudios previos, nuestro grupo encontró que la rata hembra con SN agudo desarrolla hipogonadismo-lupogonadotrópico, pérdida del ciclo estral, atresia folicular y falla total en la función del eje reproductor. A pesar de los indicios que sugieren anomalías en la función reproductiva en humanos, estos trastornos no han sido explorados en pacientes o en modelos experimentales con SN instalado crónicamente. Así, el presente trabajo tuvo como objetivo principal, estudiar las alteraciones endócrino-reproductivas en la rata hembra con SN crónico. El modelo experimental se desarrolló mediante la aplicación de 3 dosis de aminonucleósido de puromicina (75, 50 y 50 mg/Kg de peso, en los días 0, 21 y 35 respectivamente), a ratas hembras Wistar adultas, con ciclos regulares de 4 días (n=8), teniendo como grupo control ratas inyectadas con solución salina (n=8). El seguimiento del SN crónico fue de 112 días, en los cuales, 1) las ratas se dividieron en tres grupos experimentales (A, B y C), a los tres se les siguió diariamente el ciclo estral mediante frotis vaginal y se recolectó orina de 24 h, en los días 7, 14, 28, 56, 84 y 112, para la estimación de proteínas, 2) las del grupo A se emplearon para determinaciones bioquímicas y hormonales en suero, por lo que se sacrificaron en los días 7, 14, 28, 56, 84 y 112 y se tomaron muestras de sangre, 3) para evaluación de la fertilidad, en el grupo B se realizaron montas de cada hembra, con un macho fértil por un periodo de 4 días, alrededor de las 6 fechas establecidas, 4) para evaluar el efecto del macho sobre la capacidad reproductiva de las hembras nefróticas del grupo C, se colocaron con un macho fértil, en los días 7 y 14, durante 4 días, siguiendo cada día, el ciclo estral y recolectando sangre. Las mediciones bioquímicas se realizaron por métodos colorimétricos y las hormonales por RIA específicos. Los resultados muestran la instalación crónica del síndrome con las características bioquímicas propias en todas las fechas estudiadas, particularmente con persistencia de proteinuria >300 mg/24 h. El ciclo estral presentó alteraciones respecto al patrón normal del grupo control, principalmente entre los días 3 a 53, fechas en las que la presentación de proestros y estros fue menor en los animales nefróticos. Durante los 112 días, la hormona luteinizante (LH) mantuvo su nivel más bajo, correspondiente al diestro y los valores de estradiol fueron indetectables o significativamente bajos. Las concentraciones de hormona foliculo estimulante (FSH) y progesterona presentaron una ligera tendencia a disminuir a partir del día 56. La prolactina mostró una condición cíclica normal durante todo el estudio. La capacidad reproductiva disminuyó entre 33-50% en todas las fechas. La rata macho fértil ejerció un efecto importante sobre la capacidad reproductiva de la hembra nefrótica, durante el tiempo que permanecieron juntas, reapareció la fase de proestro y los niveles de estradiol se incrementaron. Los resultados del presente estudio nos permiten concluir que: a) existe disfunción endócrino-reproductiva en la nefrosis crónica de la rata hembra y que esta se caracteriza por alteración aparentemente transitoria del ciclo estral, hipocestrogenismo persistente y disminución permanente de la capacidad reproductiva y b) la presencia del macho fértil contribuye a restablecer la función reproductiva de la hembra con SN crónico.

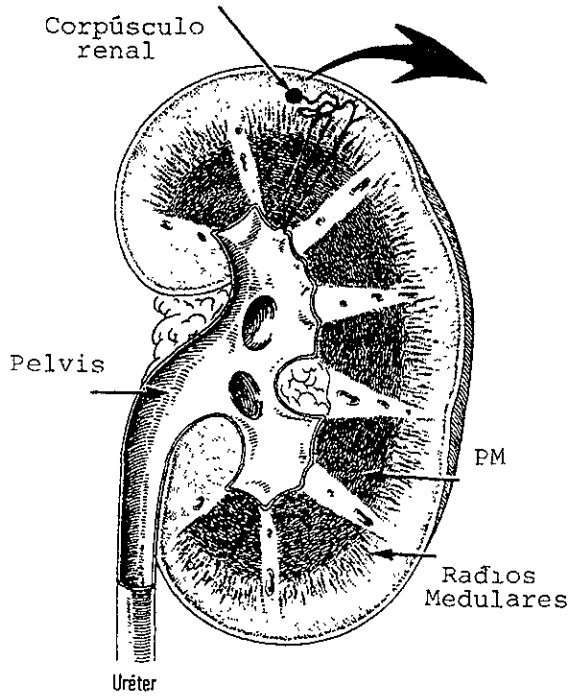
INTRODUCCION

El Riñón.

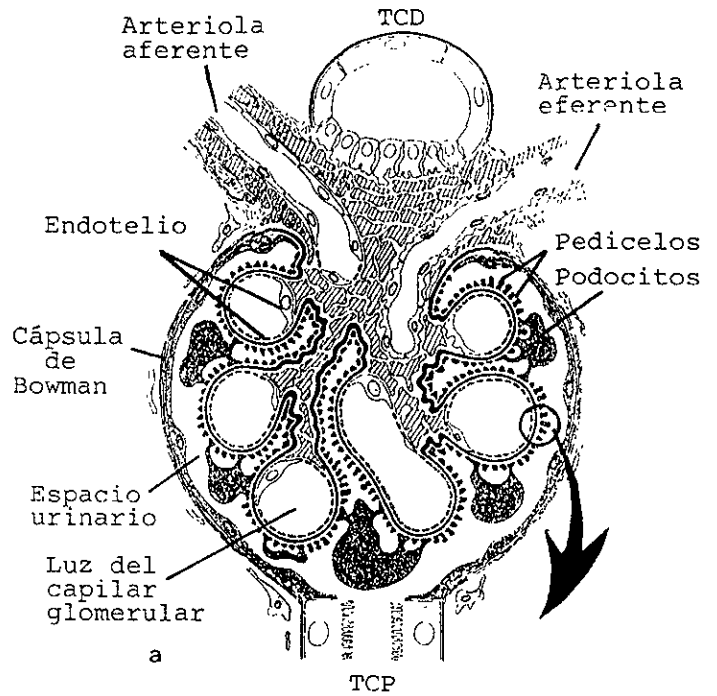
La unidad morfofuncional del riñón es la nefrona. Está constituida por el corpúsculo renal o de Malpighi y el túbulo renal, éste último se diferencia en túbulos contorneados proximal y distal y asa de Henle. El corpúsculo renal se forma de una madeja de capilares entre dos arteriolas, aferente y eferente, que constituyen el glomérulo, el cual a su vez está envuelto por la cápsula de Bowman. La cápsula de Bowman posee dos epitelios, uno externo, formando los límites del corpúsculo y otro interno adosado a los capilares. Entre ambas capas existe un espacio urinario, que recibe el líquido filtrado a través de la pared glomerular. La pared capilar glomerular, que constituye la barrera de filtración, está formada por tres componentes que en dirección de la luz del capilar hacia el espacio urinario son: el endotelio, la membrana basal glomerular y el epitelio visceral (Tisher y Madsen, 1991) (Fig. 1).

Los capilares están constituidos por un endotelio que presenta poros y a través de estos, se extienden diafragmas delgados constituidos por una película de glicoproteínas. El endotelio es muy permeable por lo que no representa una barrera significativa al paso de moléculas incluso grandes (Farquhar., 1975). La superficie de las células endoteliales está cargada negativamente debido a la presencia de una glicoproteína polianiónica de superficie, la podocalixina

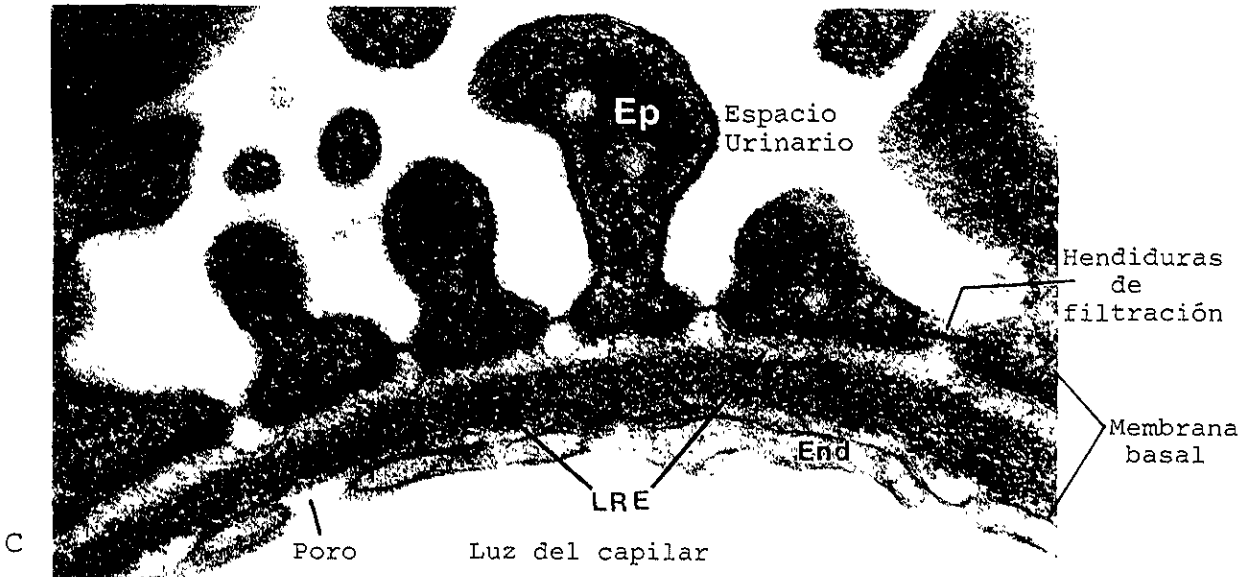
La membrana basal glomerular está constituida por tres láminas: rara interna, densa y rara externa, aunque Goldberg. (1986) consideró que las distintas capas de la membrana basal glomerular, podrían representar artefactos y que dicha membrana tiene una apariencia uniforme. Se forma principalmente por colágena tipo IV, proteoglicanos heparán sulfato



A



B



C

Figura 1.- A) Riñón corte sagital, B) Corpúsculo renal, C) Pared del capilar glomerular. Pirámides de malpighi (PM), túbulos contorneado distal (TCD) y proximal (TCP), epitelio glomerular, pedicelos (Ep), lámina rara externa (LRE), endotelio (End). (Whiteside et al., 1993; Kriz et al., 1998).

(agrina y perlecano) y condroitín sulfato y las glicoproteínas laminina, fibronectina y nidogeno (entactina) (Tryggvason , 1993; Miner., 1999).

Los proteoglicanos heparán sulfato contienen una alta densidad de cargas negativas debido a la presencia de grupos carboxilo y sulfato (Caulfield y Farquahar., 1978; Tisher y Madsen , 1991) La laminina y fibronectina localizadas en ambas láminas raras, intervienen en la adhesión de los elementos celulares entre sí y de éstos con la matriz. El nidogeno sirve como un enlace entre la laminina y la colágena (Timpl., 1989).

Las células del epitelio visceral (células epiteliales) se denominan podocitos y están formados por un cuerpo celular del cual parten prolongaciones secundarias, denominadas pedicelos, que se interdigitan alrededor de los capilares dejando espacios entre ellos, las hendiduras de filtración. Cada hendidura está parcialmente cerrada en la porción proximal a la membrana basal, por una membrana fibrilar entre pedicelos vecinos, conocida como membrana de hendidura (Tryggvason., 1993). Los pedicelos están en contacto directo con la lámina rara externa de la membrana basal glomerular, parcialmente embebidos en ella. La membrana plasmática de los podocitos posee una cubierta con carga negativa rica en ácido siálico, la podocalixina.

De acuerdo con la descripción estructural anterior, los espacios y la carga negativa son fundamentales para mantener la estructura normal y establecer las propiedades de filtración selectiva de la pared de los capilares glomerulares. La selectividad al paso de macromoléculas se relaciona con el tamaño de las mismas, por ejemplo la permeabilidad a la albúmina de aproximadamente 36 Å de radio y un peso molecular de 69 kD, es muy limitada (Farquhar , 1975). El glomérulo puede además discriminar entre distintas

moléculas según su carga eléctrica, de modo que permite mejor el paso de moléculas neutras y catiónicas con respecto a las aniónicas de las mismas dimensiones (Chang et al., 1975; Brenner et al., 1978; Remuzzi y Remuzzi., 1994). Esta restricción dependiente de la carga es un factor importante para la exclusión, prácticamente total de la albúmina en el filtrado, ya que ésta como la mayoría de las proteínas circulantes, es una molécula aniónica. Otros factores determinantes de la filtración glomerular son la conformación y flexibilidad de las moléculas, así como la tasa de filtración glomerular (Comper y Glasgow., 1995). Aunque las células epiteliales pueden proporcionar alguna limitación a la filtración, la parte fundamental de restricción para proteínas plasmáticas parece ser la membrana basal (Farquhar., 1975, Tryggvason., 1993; Guyton y Hall., 1996).

Síndrome Nefrótico.

a) Fisiopatología.

El síndrome nefrótico es uno de los estados patológicos que afectan predominantemente al glomérulo. Es una condición caracterizada por proteinuria, hipoproteinemia, hiperlipidemia y edema. La excesiva pérdida urinaria de proteínas no alcanza a ser compensada por la síntesis hepática, lo que trae como consecuencia la hipoproteinemia, básicamente hipoalbuminemia (Yamauchi et al., 1988; Pedraza-Chaverri et al., 1990). La causa principal de la hiperlipidemia parece ser el aumento de la síntesis hepática de proteínas, entre ellas las lipoproteínas, en respuesta a la disminución de la presión oncótica del plasma, causada por la hipoalbuminemia (Hutchinson., 1993; Wheeler y Bernard., 1994). Además de éste incremento en la síntesis, la hiperlipidemia en el síndrome nefrótico resulta de la disminución en el catabolismo de lipoproteínas. El deficiente catabolismo de lipoproteínas parece deberse a la reducción de la actividad de la lipasa de lipoproteínas, lipasa hepática y lecitina acil transferasa colesterol (Sestak et al , 1989., Wheeler y Bernard , 1994, Liang y

Vaziri., 1997; De Sain-Van et al., 1998). La modificación de la presión oncótica del plasma también contribuye a la formación del edema (Donkerwolcke y Vande Walle., 1997). y ésta produce hipovolemia. La hipovolemia induce el aumento en la concentración de aldosterona y hormona antidiurética, lo cual trae como consecuencia la retención de sodio y agua, que son causa también del edema.

El síndrome nefrótico puede ser producido por diferentes padecimientos cuya característica común es la proteinuria de magnitud suficiente para causar hipoproteinemia (Eddy y Schnaper., 1998). Las causas pueden englobarse en siete categorías principales: a) idiopática (nefropatía primaria), b) enfermedad generalizada, c) fármacos y alérgenos, d) causas circulatorias o mecánicas, e) enfermedades neoplásicas, f) infecciones, g) otras causas. El término síndrome nefrótico idiopático se aplica a un grupo de trastornos glomerulares de causa desconocida y entre éstos se encuentra la enfermedad de cambios mínimos. Este tipo de síndrome nefrótico aparece al microscopio óptico como un glomérulo normal, la única anomalía que se observa al microscopio electrónico es una fusión u obliteración de los podocitos. La enfermedad de cambios mínimos representa más del 75% de los casos de síndrome nefrótico en niños y 20 a 30% en adultos (Ponticelli y Passi., 1994; Orth y Ritz., 1998).

El síndrome nefrótico se relaciona con una lesión glomerular que aumenta la permeabilidad de la barrera glomerular a las proteínas de alto peso molecular como la albúmina (Tencer et al , 1998). Se ha propuesto que uno de los mecanismos responsables de la proteinuria masiva en el síndrome nefrótico podría ser la lesión de las células epiteliales glomerulares que resulta en la pérdida de procesos podocíticos, por fusión y expansión de los mismos, como consecuencia de la pérdida de la carga negativa de su superficie, lo cual deja áreas de

la membrana basal glomerular descubiertas sobre el lado urinario (Ryan y Karnovsky., 1975; Brenner et al., 1978; Fishman y Karnovsky., 1985; Kerjaschki et al., 1985; Messina et al., 1987)). También ocurre una disgregación del citoesqueleto de los procesos podocíticos y éstos se separan de la membrana basal glomerular (Kanwar y Rosenzweig., 1982; Whiteside et al., 1989 y 1993; Inokuchi et al., 1996; Kriz et al., 1998). Se ha mencionado también que probablemente el daño producido por el síndrome nefrótico, ocurra predominantemente en la membrana basal glomerular (Caulfield and Farquahar , 1978). El síndrome nefrótico congénito afecta solamente a dicha membrana y se ha propuesto que la base molecular podría radicar en la disminución o alteración de la estructura de los proteoglicanos heparán sulfato (Ogura et al., 1990; Tryggvason., 1993).

Otras alteraciones asociadas al síndrome nefrótico se relacionan con la función tiroidea, deficiencia de vitamina D y calcio (hipocalcemia), hipercoagulación, pérdida de proteínas acarreadoras de metales (ceruloplasmina, transferrina), inhibición de la respuesta inmune (Gavin et al., 1978; Goldstein et al., 1981; Fonseca et al., 1991; Harris e Ismail., 1994; Pedraza-Chaverri et al., 1994).

b) Condición aguda y crónica.

La condición aguda del síndrome nefrótico se caracteriza por presentar una fase crítica, definida por la proteinuria masiva, que declina gradualmente estableciéndose una fase de remisión, espontánea o como consecuencia del tratamiento. El esquema anterior puede repetirse regularmente (Donckerwolcke y Vande Walle., 1997; Kuhn et al., 1998)

Algunos pacientes con síndrome nefrótico no se recuperan cuando son tratados y desarrollan resistencia a la terapia con esteroides. La biopsia en la mayoría de estos pacientes revela glomeruloesclerosis focal y segmentaria (GEFS) (Tune y Mendoza., 1997).

En estudios realizados en ratas con síndrome nefrótico experimental inducido por aminonucleósido de puromicina, se ha demostrado que después de una fase nefrótica inicial de 2 a 3 semanas de duración hay remisión completa de la proteinuria. Sin embargo, 18 a 20 semanas después de la administración del fármaco, reaparece la proteinuria e histológicamente se observa la presencia de glomeruloesclerosis focal y segmentaria (Diamond y Karnovsky., 1986). Estas etapas del síndrome nefrótico corresponden como describen Anderson et al. (1988) y Magil et al. (1997), a una fase aguda del padecimiento, la cual se relaciona con el incremento inicial de la proteinuria, fase de recuperación y desarrollo de GEFS progresiva o fase crónica.

Se considera pues que la enfermedad de cambios mínimos y la glomeruloesclerosis focal y segmentaria son procesos patológicos en la continuidad de la misma enfermedad y que esta última corresponde a una lesión glomerular crónica (Diamond y Karnovsky., 1986 y 1987, Orth y Ritz., 1998; Kriz et al., 1998). El síndrome nefrótico crónico inducido con aminonucleósido de puromicina constituye por lo tanto un modelo de la glomeruloesclerosis focal y segmentaria en humanos (Magil., 1996).

La glomeruloesclerosis focal y segmentaria se caracteriza por esclerosis y hialinización de algunos glomérulos (de ahí el término focal) y solamente una porción del glomérulo es anormal (segmentaria). Se presenta colapso y adhesión de los capilares a la capa parietal de la cápsula de Bowman.

Aminonucleósido de puromicina y síndrome nefrótico experimental.

La puromicina, un antibiótico que inhibe la síntesis de proteínas, es sintetizado por el hongo *Streptomyces alboniger*. Tiene una estructura similar al extremo 3' terminal de un aminoacil-tRNA y actúa interrumpiendo la elongación de la cadena polipeptídica, debido a que reemplaza al aminoacil-tRNA que llega al ribosoma, causando la formación de un péptido diferente, la peptidil-puromicina. Como consecuencia, los nuevos aminoácidos no pueden unirse a la peptidil-puromicina deteniendo así la síntesis del polipéptido (Glitz., 1992).

El aminonucleósido de puromicina (ANP), análogo de la adenosina, es un agente antitripanosomal, derivado de la puromicina. Debido a que los perfiles patológicos del síndrome inducido por aminonucleósido de puromicina en la rata son similares a los que presentan los pacientes con síndrome nefrótico de cambios mínimos, éste fármaco se utiliza ampliamente para investigar la patogénesis del padecimiento. Cuando se inyecta aminonucleósido de puromicina en ratas, el 90% se excreta en la orina después de 8 horas y de éste, 60% a 90% se elimina en la primera hora (Derr et al., 1967). La adriamicina y el suero antirriñón producen el mismo efecto tóxico sobre la estructura y función de las células del epitelio glomerular de ratas (Weening y Rennke., 1983; Okuda et al., 1986; Whiteside et al., 1989).

Cuando el síndrome nefrótico se induce experimentalmente con aminonucleósido de puromicina, las células del epitelio glomerular parecen ser el blanco inicial del fármaco, ya que se ha observado una toxicidad directa sobre esas células (Fishman y Karnovsky., 1985; Whiteside et al., 1993). Se ha postulado que el daño glomerular asociado al aminonucleósido de puromicina es mediado por la generación de radicales libres de oxígeno que incluyen al anión superóxido ($O_2^{\cdot-}$), y el radical hidroxilo (OH) y otros metabolitos del

oxígeno como H_2O_2 . Esto se debe a que la hipoxantina, un metabolito intermediario del aminonucleósido de puromicina, puede servir como sustrato para la generación de radicales oxígeno libres, vía el sistema de la xantina oxidasa (Diamond et al., 1986; Nishimura et al., 1995). Se considera que muchos de los efectos tóxicos del radical superóxido se deben a la formación del radical $OH\cdot$, el cual es un oxidante extremadamente reactivo que interactúa con casi todas las biomoléculas conocidas y las destruye (Diamond., 1992). La formación de $OH\cdot$ a partir de O_2^- y H_2O_2 requiere la presencia de sales de hierro como catalizador. Se ha sugerido que el incremento del hierro glomerular, capaz de catalizar reacciones de radicales libres, juega un papel importante en la patogénesis del síndrome nefrótico de cambios mínimos (Thakur et al., 1988; Ueda et al., 1996)

El papel de los radicales libres de oxígeno en la patogénesis del síndrome nefrótico se ha comprobado al observar que agentes como la superóxido dismutasa, alopurinol un inhibidor de la xantina oxidasa (Diamond et al., 1986) y quelantes de hierro (Thakur et al., 1988; Ueda et al., 1996), disminuyen la proteinuria inducida por aminonucleósido de puromicina.

Eje hipotálamo-hipófisis-ovario.

El hipotálamo juega un papel importante en la regulación hormonal de la función reproductiva (Fig. 2). La secreción de las hormonas derivadas de la parte anterior de la hipófisis está controlada por el sistema nervioso central a través de reguladores hipotalámicos, uno de los cuales es la hormona liberadora de gonadotropinas (LHRH o GnRH). La GnRH está constituida por diez residuos de aminoácidos, tiene una vida media circulante de 2 a 4 minutos y se sintetiza inicialmente como una molécula precursora, la pre-pro-GnRH, que consiste de 92 aminoácidos (Seeburg y Adelman., 1984).

La periodicidad de los pulsos de la GnRH ocurre cada 60 a 100 minutos en el hipotálamo medio basal adulto (Rasmussen et al., 1989). Los sistemas catecolaminérgicos centrales ejercen efectos moduladores, los opioides endógenos tienen un efecto inhibitor (Yen., 1993). La liberación pulsátil de GnRH varía en relación al efecto de las hormonas esteroides y es máxima el día de la oleada preovulatoria de LH (Sherwood et al., 1980; Ok-Kyong y Ramírez., 1989).

Después de que GnRH se une a su receptor en la membrana de los gonadotropos, induce una serie de respuestas celulares que dan como resultado la biosíntesis y dimerización de las subunidades α y β de las hormonas luteinizante (LH) y folículo estimulante (FSH), así como los procesos de glicosilación. Este proceso es independiente de AMP cíclico, utiliza fosfoinosítidos como segundos mensajeros, requiere calcio y activación de proteína cinasa C (Richards., 1979; Hazum y Conn., 1988). La regulación fisiológica de la biosíntesis y liberación pulsátil de LH y FSH por medio de los pulsos apropiados de GnRH (Van Vught et al., 1985) implica la interacción con los factores ováricos, estradiol, progesterona, inhibina, activina y folistatina, cuyo blanco son los gonadotropos, esto induce aumento o disminución del número de gonadotropos, cambios en la expresión de los genes de las subunidades α y β de LH y FSH y secreción diferencial de estas hormonas (Gharib et al., 1990).

Tanto LH como FSH son liberadas en forma coordinada para regular el crecimiento folicular, ovulación y mantenimiento del cuerpo lúteo. Ambas ejercen sus efectos en el ovario inicialmente a través de la unión con los receptores de membrana de alta afinidad, que con excepción del receptor de LH-hCG, son específicos para cada hormona. Estos receptores son glicoproteínas y están constituidos por siete dominios transmembrana

(McFarland et al., 1989; Hekert et al., 1992). La unión de la hormona con el receptor activa la proteína G unida a un nucleótido de guanina, que a su vez activa la adenil ciclasa y aumenta la concentración de AMP cíclico como segundo mensajero (Knechtet et al., 1983; Johnson y Dhanasekaran, 1989). Este proceso lleva finalmente a la síntesis y secreción de hormonas esteroides. La síntesis y liberación de LH y FSH es regulada positiva y negativamente por las concentraciones de estradiol y progesterona (Kalra et al., 1973), a nivel del hipotálamo y la hipófisis. Además de las hormonas esteroides, al menos tres proteínas derivadas de las células de la granulosa modulan la formación y liberación de FSH actuando sobre la hipófisis, la activina parece estimular mientras que inhibina y folistatina

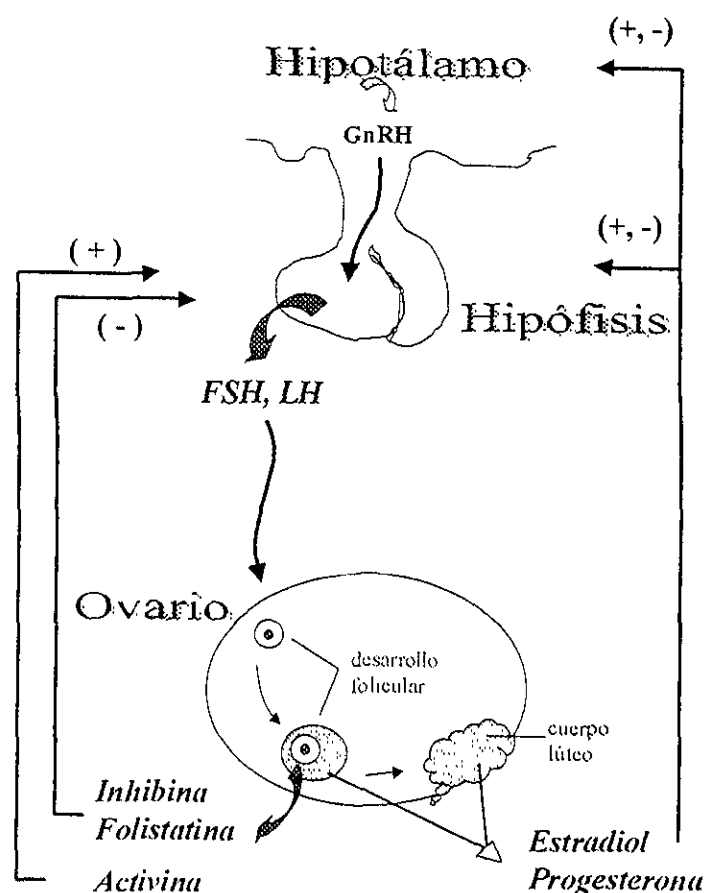


Figura 2.- Eje hipotálamo-hipófisis-ovario.

suprimen. A su vez éstas tres proteínas son inducidas por la propia FSH (Fujii et al., 1983, Ying., 1988; Tonetta y diZerega., 1989). El control positivo es básico para promover la oleada de LH requerida para iniciar la ovulación, la cual es disparada por una brusca elevación y persistencia del nivel sérico de estradiol (Goodman., 1978; Luderer y Swartz., 1994).

La distribución de las isoformas de LH y FSH en la hipófisis varía durante el ciclo reproductor y depende de la influencia de estradiol y GnRH (Galle et al., 1983; Ulloa-Aguirre et al., 1988). La cantidad de isoformas de LH básicas, biológicamente mas potentes que las ácidas, se incrementa durante la oleada preovulatoria de gonadotropinas (Costagliola et al., 1994, Kojima et al., 1995). Por otro lado, se ha observado que la LH incrementa su bioactividad al ser liberada a la circulación y esto parece estar asociado directa o indirectamente a esteroides gonadales (Mukhopadhyay et al., 1979, Leigh et al., 1994).

Desarrollo folicular .

El desarrollo folicular en la rata sigue el patrón que la regulación hormonal del ciclo estral le impone. A lo largo de este ciclo se presentan en forma sucesiva las fases de estro, diestro 1 (metaestro), diestro 2 (diestro) y proestro

Una oleada de LH y FSH ocurre en la tarde del proestro y la de FSH se mantiene en la mañana del estro. Los folículos que maduran durante un ciclo determinado, en respuesta a la oleada de gonadotropinas, inician su crecimiento alrededor de 19 días antes de la ovulación. Por lo tanto, una vez que empiezan a crecer se exponen al menos a tres oleadas consecutivas de gonadotropinas. Se ha propuesto que la oleada que precede a la ovulación selecciona de

entre el lote de folículos en crecimiento, aquéllos que ovularán y se luteinizarán en el siguiente proestro (Richards., 1979). Los estadios finales del desarrollo folicular dependen en gran parte de las gonadotropinas (Peluso et al , 1984). Los folículos no seleccionados o incapaces de responder a la señal de las gonadotropinas, se convierten en atrésicos y no maduran completamente (Richards., 1979). Aunque la atresia puede ocurrir en varios estadios, se observa principalmente en pequeños folículos antrales. La atresia folicular constituye la muerte y degeneración del folículo. El ovocito experimenta picnosis seguida por necrosis y reabsorción total. Las células de la granulosa sufren reducción en el índice mitótico y citólisis precedida de picnosis nuclear. Las células de la teca se hipertrofian. El antro es invadido por capilares y fibroblastos y finalmente se colapsa (Hsueh et al., 1994).

Los receptores de la FSH están limitados a las células granulosas y los de LH están presentes en la teca, células intersticiales y lúteas y, en grados variables, en las células de la granulosa de acuerdo con su estado de maduración (Richards., 1980). El examen de la relación entre el crecimiento folicular y los receptores a las gonadotropinas demuestra que el incremento en el número de receptores a FSH se debe en gran parte a que los estrógenos inducen la proliferación de las células de la granulosa (Louvet y Vaitukaitis , 1976). Conforme avanza la maduración de los folículos, aumenta su contenido de receptores de LH en células de la teca, sobre todo durante el proestro previo a la oleada preovulatoria de gonadotropinas. En el folículo maduro, la FSH junto con el estradiol causan incremento de receptores de LH en células de la granulosa.

Al inicio del ciclo ovulatorio la FSH estimula la actividad aromatasa de las células de la granulosa, lo que da como resultado el aumento de la concentración folicular de estrógenos (Tsonis et al., 1984), cuyo nivel creciente incrementa la captación folicular de FSH y la

sensibilidad a la acción de la misma (Schipper et al., 1998). Uno o varios folículos producen relativamente más estrógenos que los otros. Este o éstos folículos dominantes participan en una secuencia ordenada de sucesos durante los cuales la FSH y los estrógenos estimulan el crecimiento, la formación del antro, el incremento de receptores de FSH y aparición de receptores de LH en las células de la granulosa (Richards et al., 1976; Rani et al., 1981; Amsterdam y Rotmensch., 1990). Una vez inducidos, los receptores de LH en las células de la granulosa requieren la presencia continua de FSH para mantenerse. Además el estradiol se encuentra en altas concentraciones en el antro del folículo en desarrollo, lo que permite asegurar un ambiente favorable para el crecimiento y maduración de los folículos (Baird , 1990).

El aumento en la producción de estrógenos por el folículo dominante se acompaña de la caída de los niveles circulantes de FSH. En cambio los folículos que presentan menor biosíntesis de estrógenos, niveles intrafoliculares elevados de andrógenos y menor sensibilidad a la FSH, no se desarrollan (Fritz y Speroff., 1982). Además, se ha sugerido que los andrógenos inducen la atresia folicular y que los estrógenos la previenen (Harman et al , 1975; Billig et al., 1993). El folículo dominante es rodeado por la teca que capta de forma selectiva más LH que la teca de los otros miembros no dominantes del lote en desarrollo. La vascularización de la teca del folículo dominante es dos veces mayor a la de los otros folículos, lo que produce un mayor aporte de LH y lipoproteínas de baja densidad a la teca y de FSH a las células de la granulosa (DiZereaga et al., 1980, Zeleznik., 1981).

Un notable aumento de los niveles de estrógenos, seguido por una oleada de LH y en menor medida, una de FSH, desencadenan la ovulación de los folículos dominantes. Básicamente la LH estimula la ruptura de los folículos que han sido adecuadamente preparados por FSH.

El efecto ovulatorio de LH está probablemente separado de su papel esteroidogénico, aunque afecta únicamente aquéllos folículos maduros, cuyas células de la granulosa hayan adquirido receptores para LH (Baird., 1990). El cuerpo lúteo se forma a partir de las células de la teca y granulosa del folículo roto por la ovulación. Ocurre una rápida invasión por vasos sanguíneos y las células se hipertrofian. La luteinización de estas células consiste además, en la aparición de inclusiones lipídicas y desarrollo de retículo endoplásmico liso. El principal producto de secreción del cuerpo lúteo es la progesterona.

La prolactina (PRL) al igual que la LH es una hormona luteotrópica en varias especies, particularmente en roedores (Smith et al., 1975). Como tal está involucrada en la iniciación de la luteinización de células de la granulosa, manteniendo su nivel de síntesis de progesterona como células lúteas, estimulando la biosíntesis de pregnenolona y la actividad 3 β -hidroxiesteroide deshidrogenasa, e inhibiendo la actividad de la enzima que cataboliza progesterona, la 20 α -hidroxiesteroide deshidrogenasa (Catt y Dufau., 1993). En células de la granulosa, la prolactina afecta la síntesis de estrógenos al inhibir a la P₄₅₀ aromatasasa (Wang y Chan., 1982; Krasnow et al., 1990; Villanueva et al., 1996). El mecanismo de acción de la prolactina sobre sus órganos blanco incluye la dimerización del receptor y fosforilación de tirosina en varias proteínas incluyendo al propio receptor (Bole-Feysot et al., 1998).

La prolactina sérica sigue un patrón específico durante el ciclo estral, con un nivel máximo en el proestro paralelo al pico preovulatorio de estradiol (Kalra et al., 1973; Smith et al., 1975; Haug y Gautvik, 1976). En los lactotropos la expresión del gen de la prolactina está influida por el calcio, el AMP cíclico y los ésteres de forbol, por algunas hormonas como TRH, estradiol y glucocorticoides y por algunos factores de crecimiento. El factor inhibidor

que regula la liberación de la prolactina parece ser la dopamina o un neurotransmisor relacionado (Ben-Jonathan et al., 1996). Recientemente se ha informado de la existencia de un péptido liberador de prolactina, derivado del hipotálamo (Hinuma et al., 1998).

Biosíntesis de hormonas esteroides en el ovario.

En el ovario la LH estimula la actividad de adenil ciclasa, la cual induce la producción de AMP cíclico y éste, a su vez funciona como segundo mensajero, que conduce a un aumento del ARN mensajero para el receptor de lipoproteínas de baja densidad (LDL) y la unión y captación de LDL-colesterol, así como la formación de ésteres de colesterol. El colesterol es transportado a la membrana mitocondrial interna por una proteína acarreadora de esterol activada por AMP cíclico, quedando así el colesterol disponible para la síntesis de hormonas esteroides (Gwynne y Strauss., 1982; Golos et al., 1987; Stocco y Clark., 1996).

La tasa de producción de esteroides durante el ciclo está en función del contenido de cinco enzimas determinantes, la primera encargada de la ruptura de la cadena lateral del colesterol (P_{450} scc), que constituye el paso limitante y es activada por LH (Simpson., 1979), 3β -hidroxiesteroide deshidrogenasa (3β -HSD), citocromo P_{450} 17α -hidroxilasa (P_{450} 17α), 17β -hidroxiesteroide deshidrogenasa (17β -HSD) y citocromo P_{450} aromatasas (P_{450} arom), regulada por FSH. La primera de estas enzimas se encuentra en la membrana interna de la mitocondria y las otras en la membrana del retículo endoplásmico (Omura y Morohashi., 1995). Estas enzimas regulatorias catalizan respectivamente, la conversión de colesterol a pregnenolona (el paso limitante), pregnenolona a progesterona, progesterona a androstendiona, androstendiona a testosterona y testosterona a estradiol (Fig 3)

Los estudios de la capacidad esteroideogénica de células de la granulosa y teca aisladas, han llevado a la teoría que propone que en respuesta a LH las células de la teca producen principalmente andrógenos, y que FSH estimula a las células de la granulosa a aromatizar la mayoría de dichos andrógenos, convirtiéndolos en estrógenos (Armstrong y Papkoff., 1976; Hillier et al ., 1994).

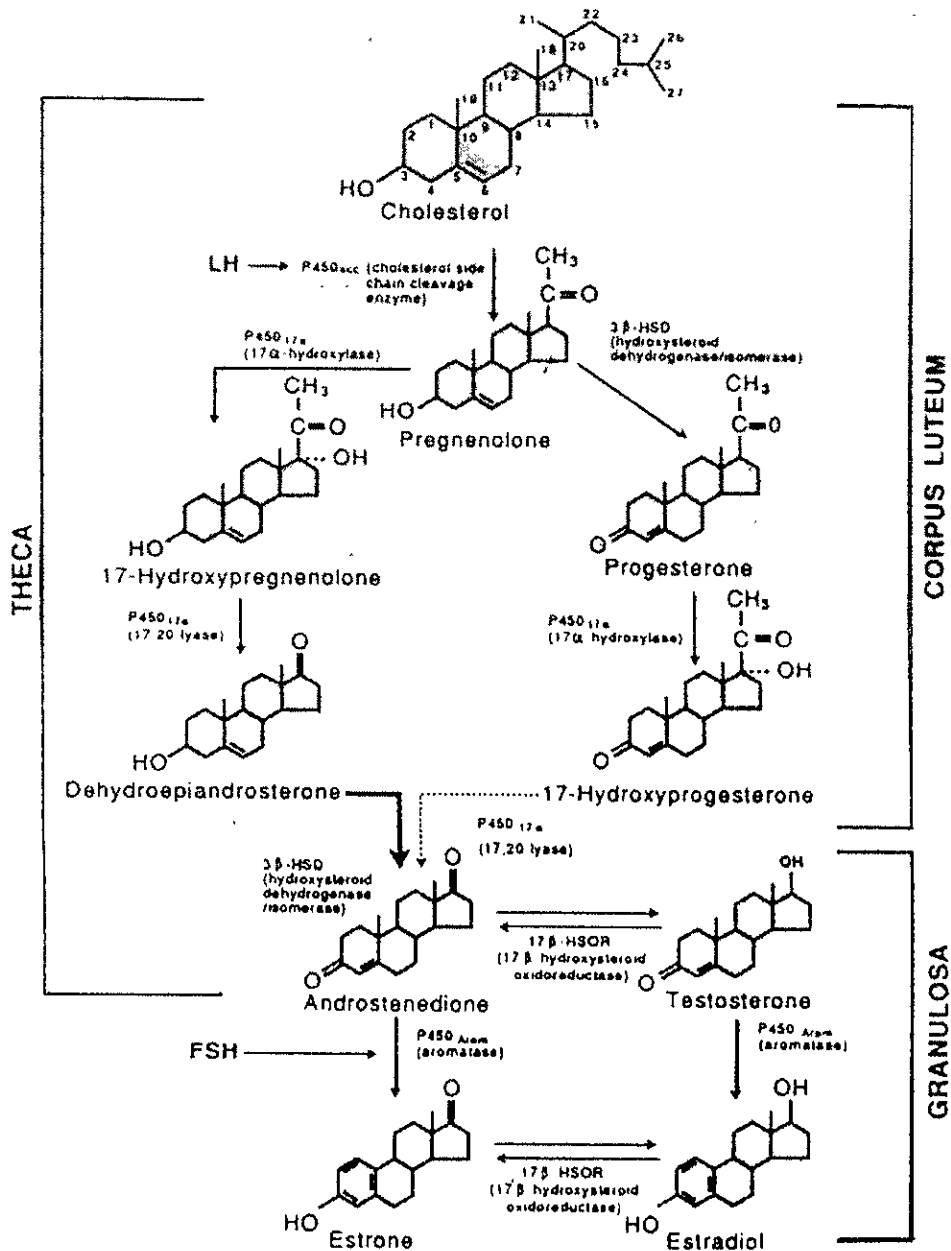


Figura 3 .- Biosíntesis de hormonas esteroideas en el ovario (Carr, 1992).

Ciclo estral de la rata.

El ciclo reproductivo de los mamíferos euterios, a excepción del ser humano y algunos otros primates, se denomina ciclo estral. En la rata el ciclo estral dura de 4 a 5 días, está acoplado al ciclo luz-oscuridad y durante el mismo se manifiestan las fases de estro, metaestro o diestro I, diestro o diestro II y proestro. El ciclo puede estudiarse mediante frotis vaginales que evidencian los cambios morfológicos del epitelio vaginal y que reflejan la actividad ovárica como consecuencia a su vez, del ambiente hormonal (Fig. 4).

La fase de estro dura de 9 a 12 horas y se caracteriza por la receptividad sexual de la hembra, para la cópula. Este comportamiento reproductivo se manifiesta como una actitud de lordosis (inmovilidad y dorsiflexión de la columna vertebral en respuesta al contacto con el macho), depende de la presencia secuencial de estradiol y progesterona y de su interacción con el hipotálamo (Priest et al., 1995; Auger y Blaustein., 1995; Graham y Clarke., 1997). Durante esta fase ocurre una rápida maduración de múltiples folículos ováricos, aumento de tamaño del útero y rápida proliferación de la mucosa vaginal, lo que trae como consecuencia que la citología exfoliativa esté constituida de células epiteliales superficiales, cornificadas y anucleadas. Al final de esta fase se produce la ovulación. El periodo de diestro I dura alrededor de 21 horas, se inicia poco después de la ovulación. Los ovarios contienen los cuerpos lúteos y folículos pequeños, el tamaño y vascularización del útero disminuyen. En el frotis vaginal aparecen muchos leucocitos polimorfonucleares entre pocas células cornificadas. El diestro II es la fase mas larga (60 a 70 horas) y se observan básicamente leucocitos y algunas células epiteliales basales nucleadas. En esta fase ocurre involución de los cuerpos lúteos y mayor regresión uterina. El proestro se caracteriza por la presencia de células epiteliales basales nucleadas y dura alrededor de 12 horas. Ocurre

involución funcional de los cuerpos lúteos y tumefacción preovulatoria de los folículos ováricos (Fox y Laird , 1970; Bloom., 1993; Freeman., 1994).

El ciclo estral en la rata se regula por los periodos de luz y oscuridad, ya que éstos controlan la producción de la hormona melatonina. La melatonina se produce en la glándula pineal e inhibe la actividad de las gónadas. Esta sigue un ritmo circadiano de síntesis y liberación, con niveles bajos o indetectables durante el día y valores máximos durante la noche. De esta forma la melatonina ejerce un efecto secuencial sobre el desarrollo folicular y con esto, la progresión del ciclo estral. Los folículos mas avanzados que se exponen a los niveles mínimos de melatonina en la fase diurna del proestro, terminan su desarrollo produciendo grandes cantidades de estradiol y como consecuencia, el aumento de LH y FSH, lo cual induce la fase de estro y la liberación de dichos folículos maduros. De acuerdo con lo anterior, se ha observado que las ratas expuestas a iluminación constante se mantienen en estro persistente (Axelrod., 1974; Turek y Van Cauter., 1994).

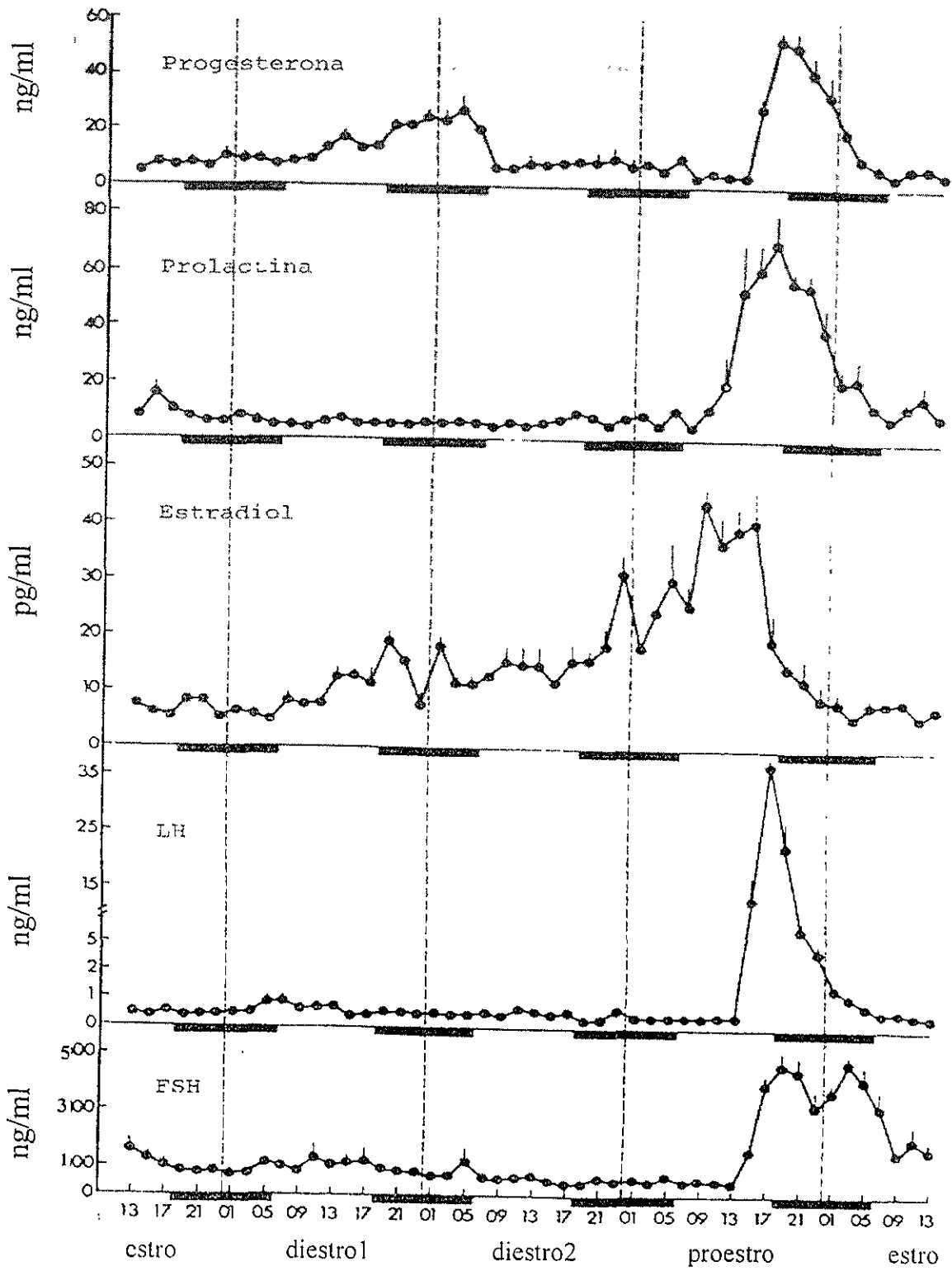


Figura 4.- Patrón hormonal durante el ciclo estral de la rata (Smith et al., 1975).

ANTECEDENTES

Las enfermedades renales generalmente se asocian con alteraciones hormonales, entre ellas las que se relacionan con la regulación del eje hipotálamo-hipófisis-gónadas (Vaziri., 1993; Veldhuis et al., 1993; Turner y Wass., 1997). Por ejemplo, la insuficiencia renal genera disfunción gonadal, afectando la función sexual y la fertilidad (Emmanouel et al., 1980, Handelsman., 1985; Turner y Wass., 1997; Palmer., 1999). Por otro lado, no existe información acerca de la función del eje reproductor en pacientes con síndrome nefrótico

En un intento por explorar el posible efecto del síndrome nefrótico sobre la función del eje hipotálamo-hipófisis-gónada en forma experimental, Glass et al. (1985) emplearon ratas macho a las que indujeron el síndrome con aminonucleósido de puromicina. Las ratas nefróticas desarrollaron hipoandrogenismo que se manifestó en reducción significativa del peso de próstata y vesículas seminales, disminución en los niveles séricos de testosterona libre y total y de la síntesis de testosterona en el testículo. El peso y la estructura histológica de los testículos no se modificaron. Se consideró que el hipoandrogenismo fue consecuencia de la baja producción de gonadotropinas, mas que a un defecto testicular intrínseco, que la disminución de gonadotropinas a su vez, fue secundaria a un efecto del testículo sobre la unidad hipotálamo-hipófisis. Los autores concluyeron que la rata macho nefrótica desarrolla hipogonadismo-hipogonadotrópico, el cual se relaciona con un incremento en la sensibilidad hipofisiaria a los efectos de retroalimentación negativa de la testosterona.

En otro estudio similar, Elias et al. (1992) observaron que las ratas macho nefróticas muestran una reducción significativa de testosterona, androstendiona, estradiol y estrona plasmáticas, indicando posiblemente daño en la esteroidogénesis testicular También

observaron aumento de LH y un marcado incremento en la excreción urinaria de testosterona. Los autores sugirieron que la pérdida urinaria de testosterona junto con su proteína de unión debería, en parte contribuir a la disminución de testosterona en suero, lo cual a su vez, estimuló la síntesis y liberación de LH. Los valores pico de LH y FSH obtenidos después de la administración de GnRH no mostraron variación lo que indica que la respuesta de las gonadotropinas a la GnRH se preserva en el síndrome nefrótico de la rata macho.

Nuestro grupo de trabajo ha aportado los siguientes resultados. En un estudio publicado por Menjívar et al. (1995), ratas hembras nefróticas seguidas durante 10 días mostraron alteración del ciclo estral 4 días después de la aplicación del aminonucleósido de puromicina. Paralelamente la concentración sérica de estradiol disminuyó hasta valores no detectables. La progesterona y la LH también disminuyeron significativamente. El examen histológico de los ovarios reveló un incremento considerable en el número de folículos atrésicos. Se consideró que la disfunción endócrino-reproductiva involucra probablemente a tejidos esteroideogénicos como el ovario y/o la glándula suprarrenal. En un trabajo semejante, Menjívar et al. (1997) evaluaron la función reproductiva en la fase aguda del síndrome (día 10) y de remisión (día 30), en ratas hembra y macho. Los niveles séricos de LH, progesterona, estradiol y testosterona disminuyeron en el día 10 y se normalizaron 30 días después. El ciclo estral se afectó entre los días 3 a 23 y la fertilidad se restableció totalmente alrededor del estado de remisión. La fertilidad en los machos se redujo en un 63% y completamente en las hembras, durante la fase aguda. Se concluyó que ratas nefróticas de ambos sexos desarrollan hipogonadismo-hipogonadotrópico transitorio, que se manifiesta como una disminución de la capacidad reproductiva y que afecta principalmente a las hembras. Por otro lado, en ratas macho con síndrome nefrótico crónico, el peso

corporal y las concentraciones de testosterona y estradiol se afectaron crónicamente, esto es, hubo retraso en el crecimiento y disminución de los niveles de estas hormonas. Los valores de LH y FSH en suero se redujeron durante los primeros 7 y 28 días, respectivamente, y posteriormente se normalizaron. El peso de la próstata ventral y las vesículas seminales, así como la capacidad reproductiva, disminuyeron también en forma transitoria. La conclusión fue que ratas con nefrosis crónica experimental desarrollan una importante disfunción endócrina, caracterizada principalmente por disminución persistente en las concentraciones de testosterona, lo cual reduce transitoriamente la capacidad reproductiva. (Ortiz et al., 1999)

Estos antecedentes nos permiten plantear la posibilidad de que en ratas hembras adultas con una condición crónica del síndrome nefrótico, se generen alteraciones hormonales, las cuales podrían también de manera crónica, afectar la función del eje reproductor.

OBJETIVOS

a) Objetivo general.- Estudiar las alteraciones que sobre el eje hipotálamo-hipófisis-gónadas se presentan en la rata hembra con síndrome nefrótico crónico.

b) Objetivos específicos:

- 1.- Establecer el perfil hormonal reproductivo en la rata hembra con síndrome nefrótico crónico.
- 2.- Analizar el patrón del ciclo estral en la rata con síndrome nefrótico crónico.
- 3 - Evaluar la capacidad reproductiva de la rata hembra con síndrome nefrótico crónico.
- 4.- Evaluar el efecto de la rata macho fértil sobre la capacidad reproductiva de la hembra con síndrome nefrótico crónico.

MATERIAL Y METODOS

Animales y diseño experimental.

Se utilizaron ratas Wistar hembras adultas de 250-280 g, mantenidas con periodos de 12 h de luz y 12 h de oscuridad (luz desde las 0700 h), con libre acceso a comida y agua. Se llevó a cabo un seguimiento del ciclo estral mediante frotis vaginales diarios, efectuados entre las 0800 y 1000 h. Solo se seleccionaron ratas que presentaron al menos dos ciclos normales consecutivos y se les aplicaron tres inyecciones sc de aminonucleósido de puromicina (Sigma Chemical Co., St. Louis, MO), a razón de 75, 50 y 50 mg/Kg de peso, en los días 0, 21 y 35, respectivamente. El aminonucleósido de puromicina se disolvió en solución salina y cada animal recibió la dosis mencionada en una mezcla al 2%. Se incluyeron ratas control que se inyectaron con solución salina isotónica. La evaluación del padecimiento se realizó en los días 7, 14, 28, 56, 84 y 112, posteriores a la primera aplicación del fármaco, tomando en cuenta, a) que la instalación del síndrome nefrótico ocurre desde el día 3, según observaron Menjivar et al. (1995) y b) el elevado costo de estos experimentos. Este corresponde al mismo esquema de tratamiento empleado por Ortiz et al. (1999), en ratas macho.

Las ratas se dividieron en tres grupos de acuerdo a su destino final. A los animales de los tres grupos se les siguió el ciclo estral y se colocaron en jaulas metabólicas, en los días indicados, para recolectar la orina de 24 horas. Las del grupo A se sacrificaron alrededor de las 1600 h para la obtención de sangre. Las del grupo B se colocaron con ratas macho fértiles para evaluar la capacidad reproductiva. Las del grupo C se colocaron con ratas macho fértiles para evaluar el efecto de éstos, sobre la capacidad reproductiva de las hembras.

Obtención de muestras y determinaciones bioquímicas.

Las ratas del grupo A se sacrificaron por decapitación, en los días mencionados y se recolectó sangre de la cual se obtuvo el suero. La concentración de proteínas, colesterol y creatinina se midieron por métodos colorimétricos (Pedraza-Chaverri et al., 1990).

Evaluación de la concentración hormonal.

La concentración de hormonas en suero se midió por radioinmunoanálisis (RIA) de doble anticuerpo. Para cuantificar LH, FSH y PRL se emplearon reactivos y métodos proporcionados por The National Hormone and Pituitary Program (Baltimore, MD, USA), después de llevar a cabo la estandarización de los procedimientos. Los resultados se expresaron en términos de los estándares de referencia internacional correspondientes, LH-RP-3, FSH-RP-2 y PRL-RP-2. Los coeficientes de variación intra e interanálisis fueron 7.4 y 12.1, 9.2 y 14.6, 8.7 y 14.1, respectivamente. Para estradiol y progesterona se utilizaron estuches de Diagnostic Products (Los Angeles, CA). Los coeficientes de variación intra e interanálisis fueron 7.4 y 6.6 y 8.4 y 8.6, respectivamente.

Los estándares de yodación altamente purificados de LH (NIADDK-rLH-I-9), FSH (NIADDK-rFSH-I-8) y PRL (NIADDK-rPRL-I-6), se yodaron con I^{125} (Amersham International, England, actividad específica 16.8 mCi/ μ g), por el método de la cloramina T (Cárdenas et al., 1989), utilizando solución amortiguadora de fosfatos (PBS) 0.05 M, pH 7.4, para realizar el RIA (Fig. 5). Las actividades específicas de las hormonas LH- I^{125} , FSH- I^{125} y PRL- I^{125} fueron de 75, 76 y 65 μ Ci/ μ g, respectivamente. La reacción de unión de I^{125} a LH se efectuó con 15 μ l de cloramina T (5 mg/3 ml PBS), agitación por 40 seg y 50 μ l de metabisulfito de sodio (15 mg/5 ml PBS). Para la PRL se utilizó una columna con Sephadex

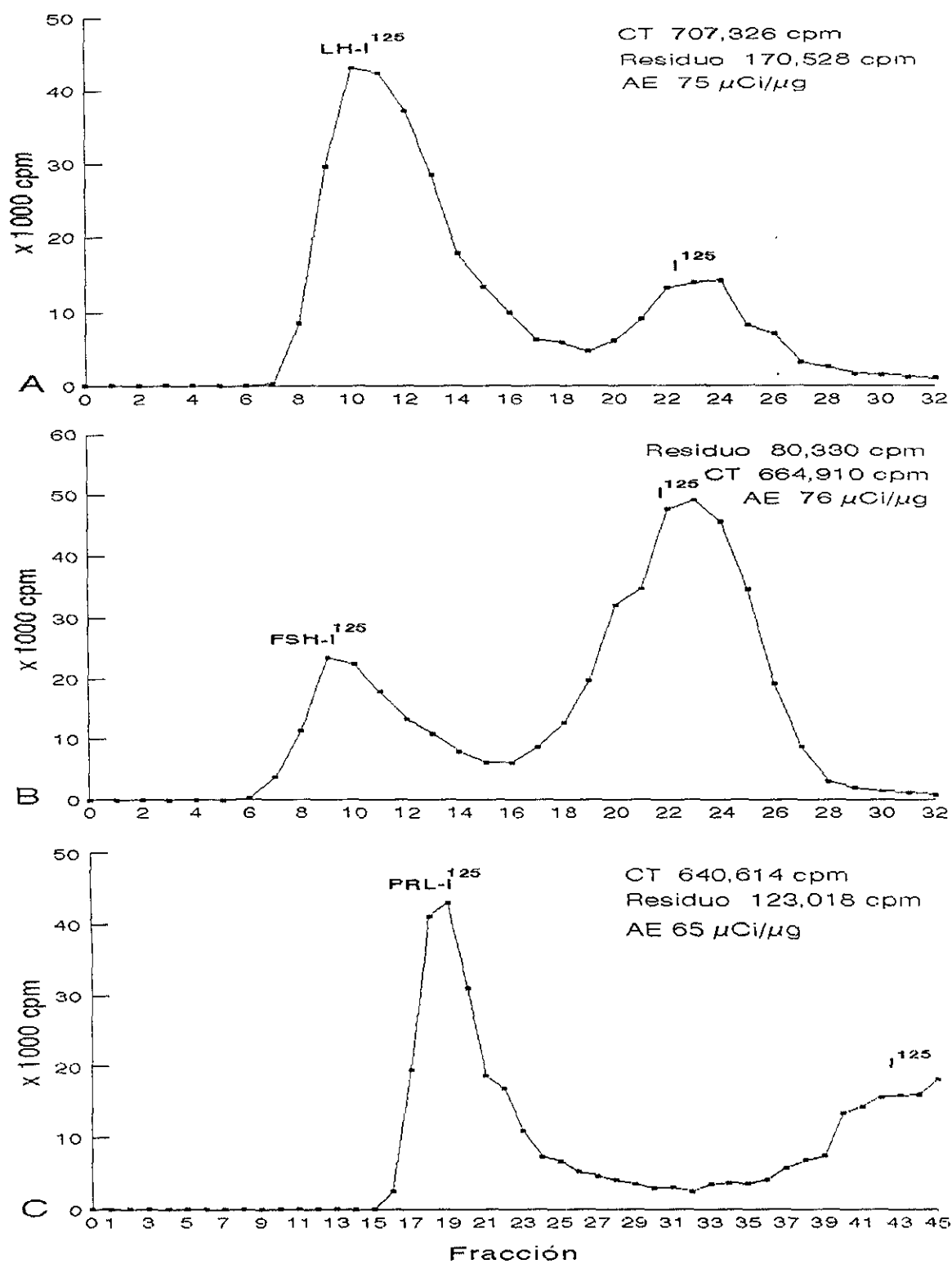


Figura. 5.- Gráfica de separación por cromatografía de las hormonas marcadas con I^{125} , A) LH y B) FSH, en Sephadex G-100 y C) PRL, en Sephadex G-50. CT = cuenta total, AE = actividad específica.

G-50, 35 μ l de cloramina T (5 mg/3 ml PBS), 40 seg de reacción y 50 μ l de metabisulfito de sodio (15 mg/5 ml PBS), se recolectaron 5 gotas (0.3 ml) por tubo.

A - RIA de LH y FSH.

Para todas las diluciones a excepción del segundo anticuerpo, se utilizó PBS 0.05 M, pH 7.4, con 0.01 M EDTA, 50 mg/L gamma globulina de conejo y 0.2% albúmina sérica bovina (BSA). El primer anticuerpo se usó a una dilución inicial 1:84,000 y 1:20,833, para LH (NIDDK-anti-rLH-S-11) y FSH (NIDDK-anti-rFSH-S-11), respectivamente, con incubación de 24 h a temperatura ambiente y el segundo anticuerpo, suero de borrego antigamma globulina de conejo, se usó a una dilución inicial 1:5 con PBS + Polietilen glicol (PEG) al 8%. Se agregaron 10,000 cuentas por minuto (cpm) de LH-I¹²⁵ o FSH-I¹²⁵ a cada tubo en 100 μ l. Se incubó a temperatura ambiente por 1 h y se centrifugó a 3000 rpm por 60 min.

B.- RIA de prolactina.

El primer anticuerpo (NIDDK-anti-rPRL-S-9) se empleó a una dilución inicial de 1:72,900, la cual se hizo con PBS 0.01 M, pH 7.4 + 0.1% BSA, pH 7.4, con incubación de 24 h a temperatura ambiente y el segundo se empleó a una dilución inicial 1:5, con PBS + PEG al 8%. A cada tubo se le agregaron 12,000 cpm de PRL-I¹²⁵ (100 μ l con PBS + suero normal de conejo al 1%). Se incubó por 2 h a temperatura ambiente, se agregó 1 ml de agua fría y se centrifugó a 3000 rpm durante 40 min.

Capacidad reproductiva.

Para evaluar la capacidad reproductiva de las hembras del grupo B, éstas se colocaron individualmente con un macho fértil durante 4 días, a partir de los días indicados. Al término del periodo de gestación, se registraron el número de ratas preñadas y número de crías de cada una, así como el peso y la proporción de sexos de éstas últimas.

Para evaluar el efecto que la presencia del macho fértil podría ejercer sobre la capacidad reproductiva de la hembra nefrótica, se siguieron ratas con la condición crónica del síndrome (grupo C). Se colocaron con los machos individualmente, 7 y 14 días después de la primera inyección del aminonucleósido de puromicina, se recolectaron muestras de sangre basal y durante los cuatro días en que permanecieron con los machos (antes y después del macho, respectivamente), para medir los niveles séricos de estradiol. Durante este tiempo se mantuvo el seguimiento del ciclo estral.

Estadística

Los datos se cargaron en el paquete estadístico Epistat 4.0 y se analizaron por prueba de "t" de Student. Una $p < 0.05$ se consideró estadísticamente significativa.

RESULTADOS

En la tabla 1 se presentan los resultados de las determinaciones bioquímicas, derivados de dos experimentos. En las ratas nefróticas, las proteínas en orina y el colesterol en suero, permanecieron elevadas durante todo el estudio. Las concentraciones promedio de proteínas urinarias fueron de 520 mg/24h en las ratas nefróticas, contra 7 mg/24h, en las controles y las de colesterol sérico, de 344 mg/dl contra 83 mg/dl. La concentración de proteínas en suero, disminuyó del día 7 al 28 y posteriormente (días 56 a 112), no hubo diferencia significativa respecto a las controles. En los animales nefróticos se observó también retención de líquido intraperitoneal, de aproximadamente 30 ml al inicio del estudio y 3 a 5 ml al final.

La creatinina en suero se mantuvo dentro del nivel normal durante todo el estudio, con un valor promedio de 0.6 mg/dl, tanto en los animales nefróticos como en los controles.

Tabla 1.- Determinaciones bioquímicas en la rata hembra con síndrome nefrótico crónico

Día	Grupo	Proteínas en orina mg/24h	Proteínas en suero g/dl	Colesterol en suero mg/dl	Creatinina en suero mg/dl	n
7	Controles	7±1 *	9.7±0.2 *	89±4 *	0.5±0.02	8
	Nefróticas	409±51	6.5±0.2	301±25	0.5±0.02	8
14	Controles	7±1 *	9.5±0.2 *	85±5 *	0.5±0.03	9
	Nefróticas	511±25 *	7.9±0.2	412±34 *	0.6±0.04	8
28	Controles	6±1 *	9.8±0.2 *	88±4 *	0.6±0.04	10
	Nefróticas	502±49 *	7.6±0.2	486±52 *	0.6±0.07	8
56	Controles	5±1 *	9.2±0.5	78±6 *	0.6±0.02	8
	Nefróticas	521±51 *	8.9±0.2	417±39 *	0.6±0.05	8
84	Controles	9±3 *	8.8±0.4	76±3 *	0.6±0.03	11
	Nefróticas	415±60 *	8.4±0.3	202±26 *	0.6±0.03	12
112	Controles	7±2 *	8.4±0.1	86±5 *	0.6±0.02	8
	Nefróticas	432±71 *	8.5±0.1	247±39 *	0.5±0.02	10

$\bar{X} \pm \text{EEM}$ *p<0.05

Los resultados correspondientes al seguimiento del ciclo estral (Fig. 6), constituyen el producto de dos experimentos. La presentación de las diferentes fases del ciclo, se expresaron como porcentajes de diestro, proestro y estro, respectivamente. Estos porcentajes juntos, constituyen el 100% de las ratas en cada día. En las ratas control, la mayoría de los ciclos tuvieron una duración de 4 días. En las nefróticas el ciclo estral se alteró. Los porcentajes de proestro y estro disminuyeron y los de diestro se incrementaron, alrededor de los días 3 a 53 del estudio. Estos animales por lo tanto, manifestaron una fase prolongada de diestro, según se evidenció en los frotis vaginales, en los que característicamente se observó predominancia de leucocitos. En los intervalos de tiempo restantes y sobre todo, entre los días 53 a 112, predominaron los ciclos aparentemente normales, ya que durante este último periodo de tiempo, sorprendentemente en muchos de los frotis vaginales, se observaron estros atípicos.

Como se sabe, en la rata, la concentración de las hormonas que regulan la función del eje reproductor, cambian durante el ciclo estral, siguiendo un patrón característico en las diferentes fases del mismo. Después de integrar los resultados de dos experimentos del grupo A, las concentraciones hormonales, expresadas como el promedio de al menos 39 animales controles (producto de todas las fechas mencionadas) y 6 nefróticas en cada fecha señalada, se compararon en las gráficas correspondientes, con el promedio de valores control en el proestro. Este último promedio se obtuvo a partir de los resultados individuales de los controles, en todos los días, para cada hormona. Se agruparon los valores correspondientes a cada etapa del ciclo, tomando como referencia los resultados de los frotis vaginales, según lo descrito por Butcher et al. (1974) y Smith et al. (1975), durante el ciclo estral de 4 días, en la rata

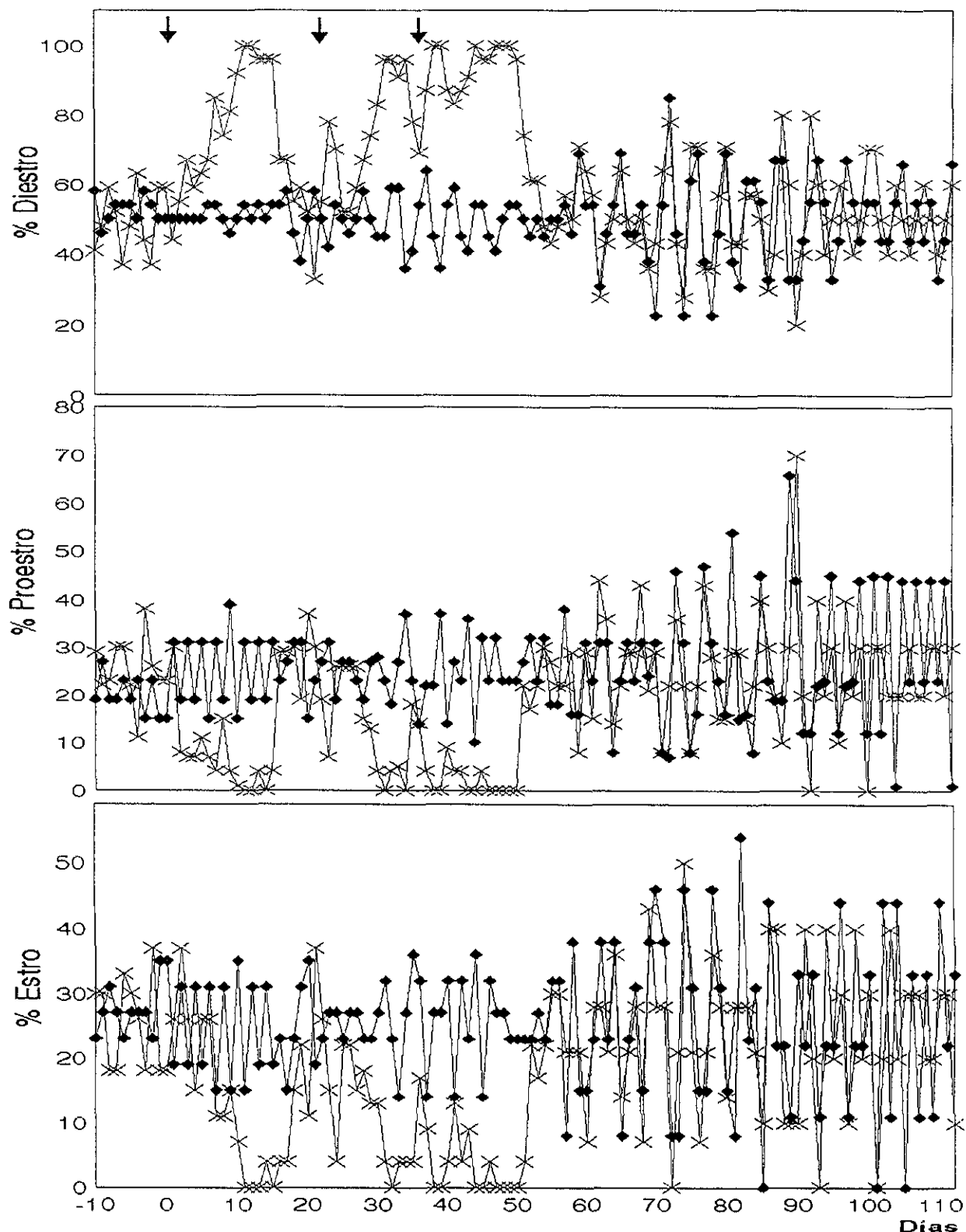


Figura 6.- Seguimiento del ciclo estral mediante frotis vaginal durante 10 días antes y 112 días después de la primera inyección (día 0) del ANP. Se registró el número diario de diestros, proestros y estros, como porcentaje de al menos 10 animales controles (♦) y 10 nefróticos (x), respectivamente, a los que se indujo el síndrome con 75, 50 y 50 mg de ANP/Kg de peso, en los días 0, 21 y 35, respectivamente (flechas). La n inicial = 30, n final = 10.

Los resultados de LH, FSH, progesterona, estradiol y los valores control del diestro, proestro y estro, se muestran en la figura 7. Los pertenecientes a las ratas nefróticas se compararon con el valor control obtenido en la fase de proestro. Se consideró la significancia estadística respecto al valor control del proestro, tomando en cuenta que las concentraciones correspondientes a esta fase, son representativas de ciclos ovulatorios. La concentración de LH se modificó, pues durante todo el estudio mantuvo el nivel mas bajo que normalmente se observa en el ciclo estral, correspondiente a la fase de diestro. A diferencia de LH, las concentraciones circulantes de FSH y progesterona, parecen presentar una alteración menos evidente, al no establecerse en una fase específica del ciclo. Estas dos hormonas mostraron una disminución significativa, en los días 56, 84 y 112. La concentración sérica de estradiol fue permanentemente baja, inferior al nivel mínimo observado durante el ciclo estral normal, e incluso no detectable, en los días 7 y 14.

En la figura 8 se observan los resultados de las concentraciones de prolactina. Estos también se compararon con el valor control del proestro. La prolactina, al igual que FSH y progesterona, no permaneció en el nivel correspondiente a una fase determinada. Por el contrario, a lo largo del estudio la concentración de esta hormona, siguió una fluctuación, la cual indica que mantuvo su patrón cíclico normal.

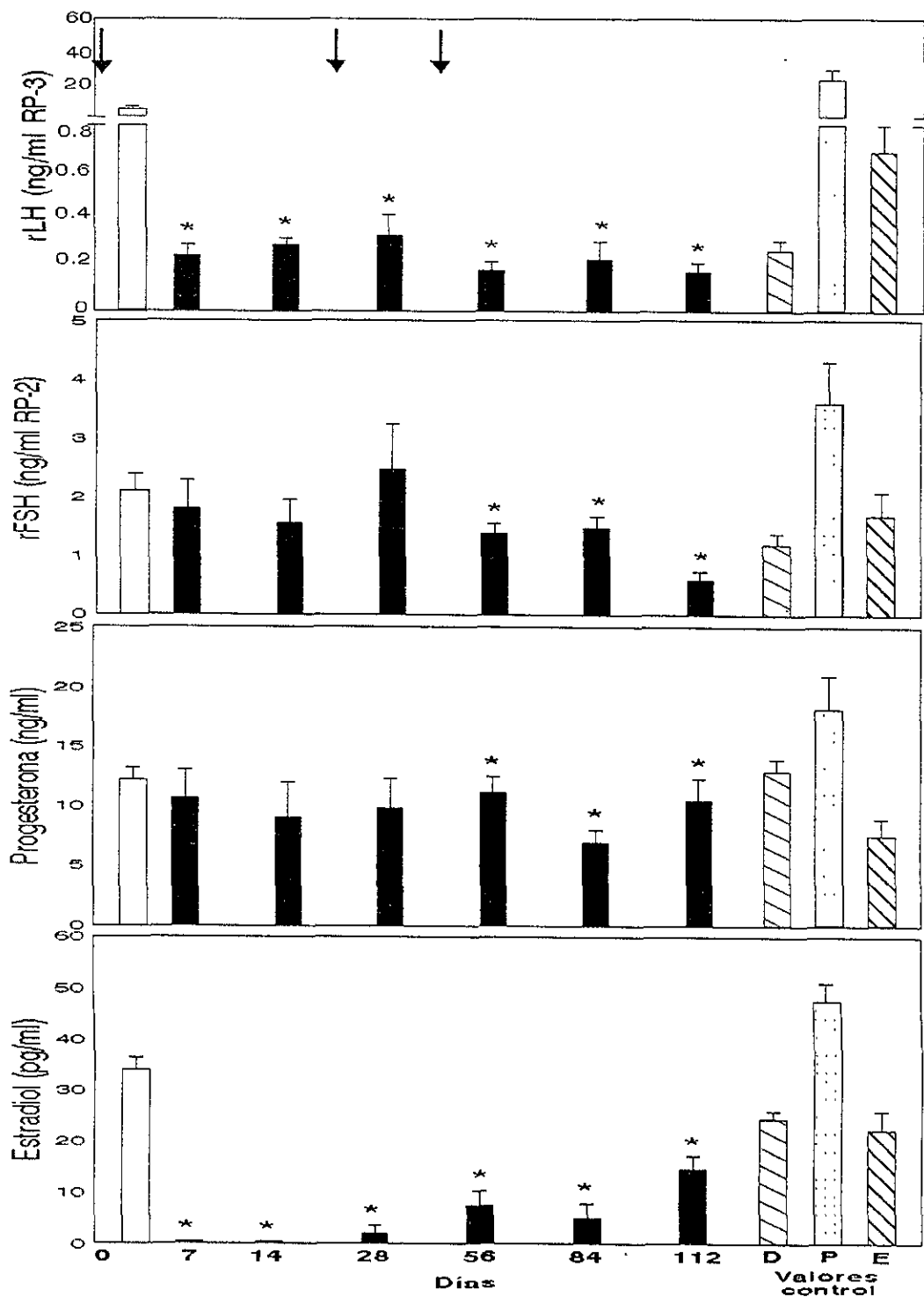


Figura 7.- Concentraciones de LH, FSH, progesterona y estradiol, en suero de ratas control (□, n=55) y con síndrome nefrótico crónico (■, n=10) inducido con ANP, 75, 50 y 50 mg/Kg de peso, en los días 0, 21 y 35, respectivamente (flechas). Los datos corresponden al promedio ± error estándar de la media. Los resultados de las ratas nefróticas se comparan con los valores control en el proestro (P). * $p < 0.05$ respecto a P.

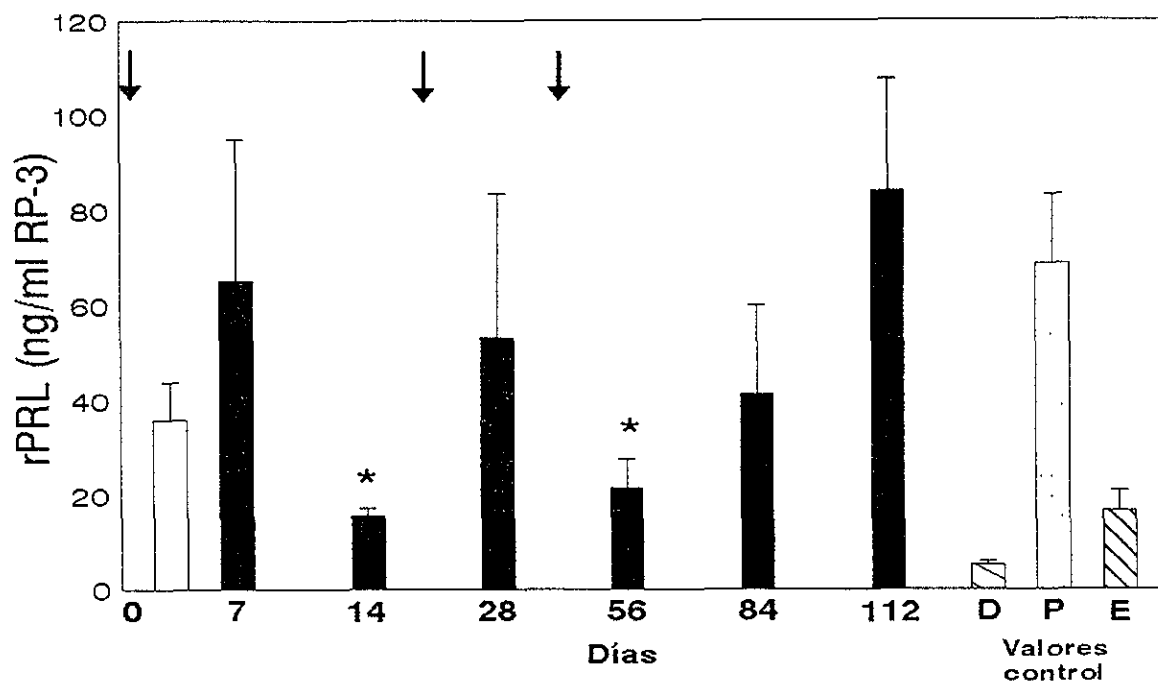


Figura 8.- Concentración de prolactina en suero de ratas control (□, n=39) y tratadas con ANP (■, n=8), 75, 50 y 50 mg/Kg de peso, en los días 0, 21 y 35, respectivamente (flechas). Los datos corresponden al promedio \pm error estándar de la media. Los resultados de las ratas nefróticas se comparan con el valor control en el proestro (P). * $p < 0.05$ respecto a P.

La capacidad reproductiva, en los animales nefróticos del grupo B, disminuyó durante todo el estudio (Tabla 2). El porcentaje de fertilidad más bajo que se observó fue del 50% y el más alto, del 67%, contra 80% y 100%, respectivamente, en los controles. La reducción de la capacidad reproductiva, en las ratas nefróticas fue por lo tanto, de 33% a 50%. El resto de los parámetros, relacionados con las camadas derivadas de los apareamientos, esto es, número de productos, porcentaje de sexos y peso corporal, no se modificaron

Tabla 2.- Capacidad reproductiva en la rata hembra nefrótica

Día	Grupo	Proporción de fertilidad	Fertilidad %	Productos N ^a	Sexo %		Peso ^{a,b} g
					H	M	
7	Controles	4/4	100	10 ± 1	56	43	58 ± 4
	Nefróticas	3/5	60	6 ± 2	37	63	56 ± 2
14	Controles	4/4	100	8 ± 1	58	42	61 ± 5
	Nefróticas	3/6	50	5 ± 1	37	62	57 ± 6
28	Controles	8/8	100	10 ± 1	56	43	69 ± 4
	Nefróticas	3/5	60	8 ± 1	64	36	60 ± 5
56	Controles	5/5	100	9 ± 1	46	54	58 ± 4
	Nefróticas	3/5	60	6 ± 1	65	35	54 ± 6
84	Controles	4/5	80	11 ± 1	62	38	42 ± 4
	Nefróticas	3/5	60	7 ± 1	54	45	57 ± 9
112	Controles	4/5	80	8 ± 1	52	48	51 ± 6
	Nefróticas	4/6	67	8 ± 1	52	48	50 ± 3

a = promedio ± EEM

b = peso 21 días después de nacidos

Con el fin de resolver la discrepancia entre los resultados de los grupos A y B, es decir, diestro persistente e hipoestrogenismo en el grupo A y ratas que resultaron preñadas en el grupo B, se diseñaron los experimentos correspondientes al grupo C, esto es, el efecto del macho fértil, sobre la capacidad reproductiva de la hembra nefrótica de 7 y 14 días de seguimiento. En la figura 9 se muestran los resultados derivados de las ratas de este último grupo, en el día 7. Las nefróticas presentaron diestro prolongado al inicio de los apareamientos, como se había observado previamente en las del grupo A (figura 6). La mayoría de las ratas presentaron proestro desde el primer día y aceptaron al macho, ya que se observaron espermatozoides en los frotis vaginales y en ocasiones, el tapón vaginal. Resultaron preñadas el 60% de las ratas nefróticas, contra 92% de las controles. Este porcentaje fue semejante al observado en los animales del grupo B (tabla 2). Además del

incremento en la fertilidad, sorprendentemente la concentración de estradiol en suero aumentó significativamente, en los animales nefróticos, de forma paralela con la recuperación del ciclo estral, alcanzando el nivel que corresponde al proestro, de acuerdo a los frotis vaginales. En cambio, las ratas nefróticas que permanecieron sin el macho, se mantuvieron en la fase de diestro, con una concentración de estradiol muy baja. En las ratas control que permanecieron sin el macho, el ciclo estral y las concentraciones de estradiol no se modificaron. Los resultados correspondientes a las camadas derivadas de los apareamientos fueron equivalentes entre nefróticas y controles, como previamente se había observado en los animales del grupo B. En las ratas de 14 días se obtuvieron resultados similares. En las nefróticas, el estradiol se incrementó significativamente, de 2 pg/ml a 11 pg/ml, antes y después del macho, respectivamente y hubo 67% de preñación contra 92% en las controles.

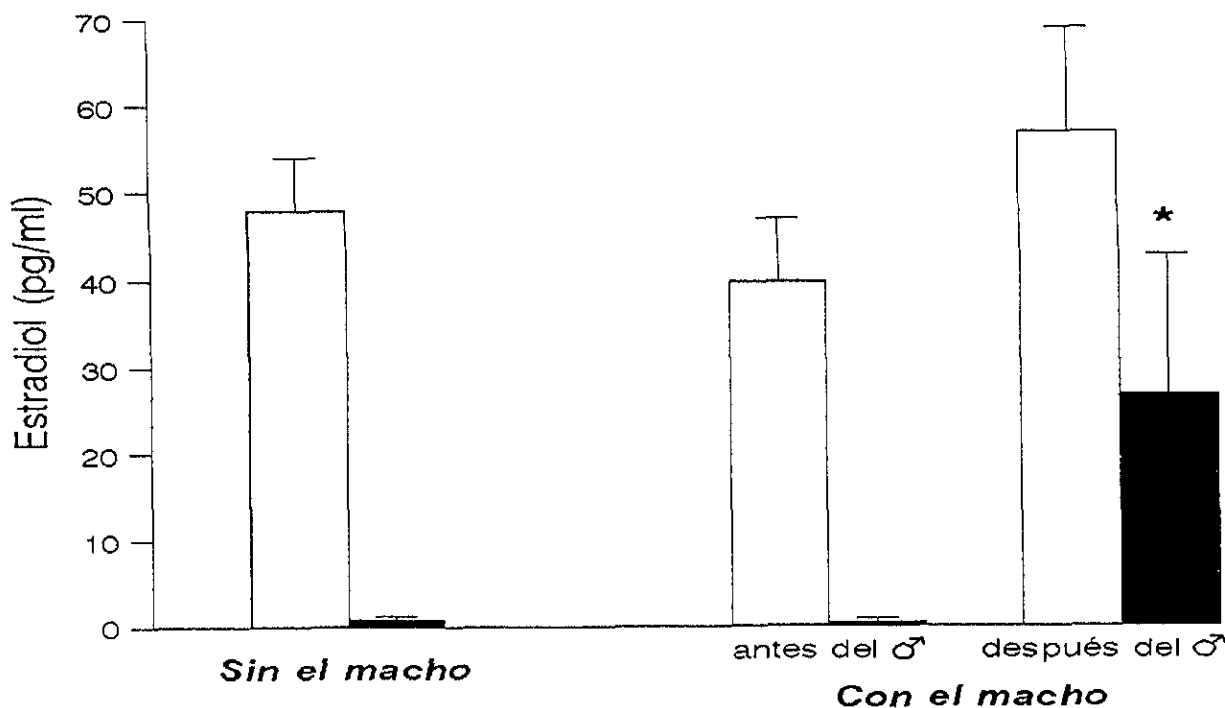


Figura 9.- Efecto de la rata macho fértil sobre la capacidad reproductiva de la hembra nefrótica (■) de 7 días de seguimiento, respecto a las controles respectivas (□). Los datos son expresados como el promedio \pm error estándar de la media, de 6-12 animales. * $p < 0.05$ contra antes del macho.

En la figura 10 se observa que en las ratas nefróticas, el peso corporal fue ligeramente inferior al de las controles correspondientes, en todos los días señalados, posteriores al día cero. Esta diferencia, sin embargo, no fue significativa. Los pesos promedio inicial y final fueron de 247 g y 306 g en las nefróticas y 257 g y 312 g en las controles. Al final del estudio, las ganancias de peso promedio respectivas fueron de 65 g y 49 g.

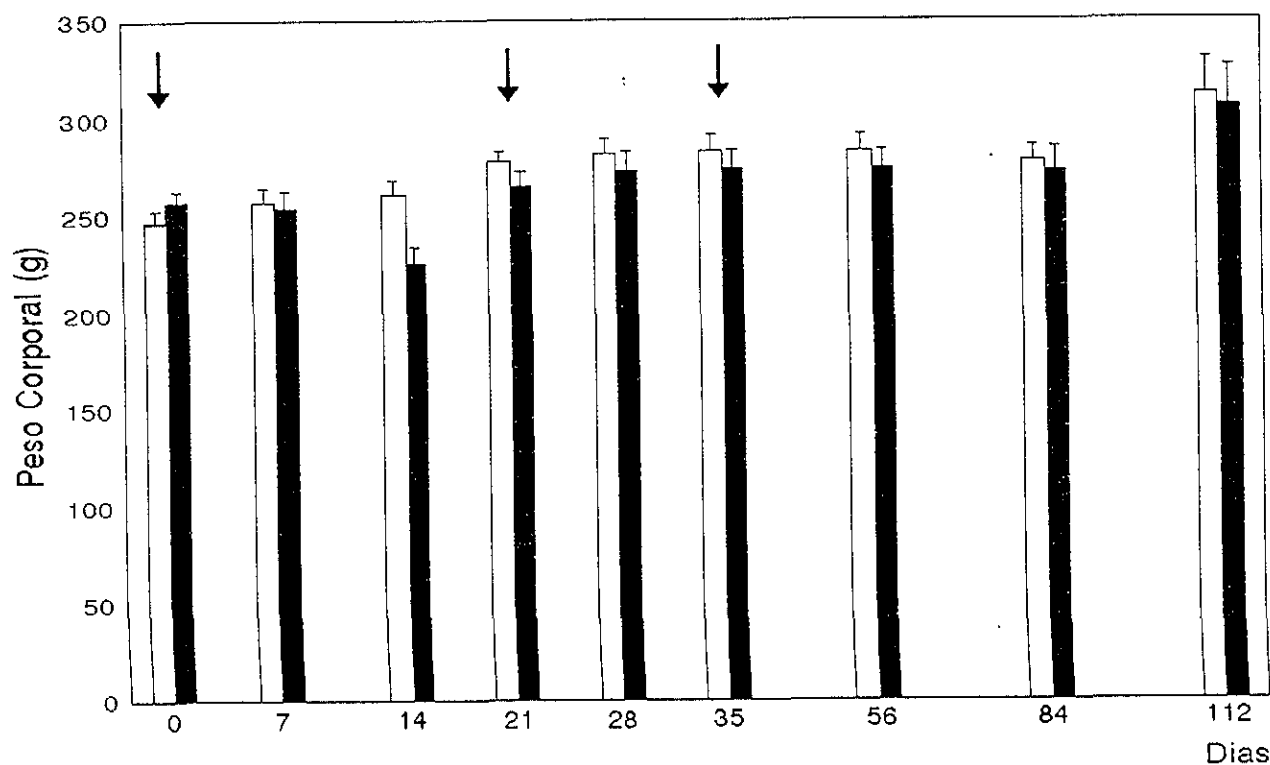


Figura 10. - Comparación del peso corporal de ratas hembra nefróticas (■) y controles (□), en los días señalados. Las flechas indican los días en que se les inyectó el ANP, 75, 50 y 50 mg/Kg, respectivamente. Los resultados constituyen el promedio \pm error estándar de la media (n=10).

DISCUSION

En este estudio se evaluó la función del eje hipotálamo-hipófisis-ovario en ratas con síndrome nefrótico crónico. La proteinuria, que constituye la principal característica de esta enfermedad glomerular, fue permanente en estos animales, lo que marcó el estado crónico del padecimiento. La hipercolesterolemia, cuya magnitud fue semejante a la que reportaron otros autores (Okuda et al., 1986; Liang et al., 1996; Ortiz et al 1999), reafirmó la consideración de que nuestras ratas desarrollaron síndrome nefrótico. El restablecimiento de la concentración de proteínas en suero, que se observó a partir del día 56, como lo ocurrido en ratas macho (Ortiz et al., 1999), podría ser consecuencia de una respuesta adaptativa a la pérdida urinaria de proteínas.

En el modelo experimental de síndrome nefrótico crónico, se presenta un desorden endócrino-reproductivo, que afecta el patrón del ciclo estral y la fertilidad. Este desorden, al igual que en ratas con síndrome nefrótico agudo (Menjívar et al , 1995), incluye la disminución de la concentración sérica de estradiol, que en el presente estudio fue permanente. En el trabajo de Menjívar et al (1995), se observó además, un alto índice de atresia en folículos ováricos. Así mismo, estudios de la atresia folicular y su relación con la síntesis de hormonas esteroideas, han demostrado que ésta se asocia con deficiencia en la actividad de la enzima P₄₅₀ aromatasa (Tsonis et al., 1984; Hsueh et al., 1994; Jolly et al., 1997; Otsuka et al., 1997), así como con disminución en la expresión de sus ARN mensajeros (Tilly et al., 1992). Lo anterior nos permite plantear la posibilidad de que en la rata con nefrosis crónica, se presente un incremento en la proporción de folículos atrésicos, que como se menciona en diversos trabajos sobre atresia folicular (Hsueh et al , 1994; Manikkam y Rajamahendran., 1997; Otsuka et al., 1997), correspondientemente disminuya

la actividad de la aromatasa y como consecuencia, la concentración de estradiol. La suposición de la deficiencia en actividad aromatasa se basa además en que en otro tipo de desórdenes endócrinos como el síndrome de ovarios poliquísticos, en el cual se afecta el desarrollo folicular y se abate la síntesis de FSH, la actividad de la aromatasa y el contenido de su ARN mensajero disminuyen, limitando la eficiencia del ovario para aromatizar andrógenos (Jakimiuk et al., 1998) La reducción en la concentración de estradiol puede deberse también a una alteración en el número de receptores de FSH, por lo que este aspecto merece ser aclarado en futuras investigaciones.

La concentración de LH en las ratas nefróticas evaluadas en el presente trabajo, se mantuvo durante todo el estudio, en el nivel mas bajo que se observa durante el ciclo estral normal y que corresponde a la fase de diestro. La disminución de LH, así como de estradiol, son características que se han presentado en las ratas hembra y macho nefróticas, que nuestro grupo de trabajo ha estudiado a la fecha (Menjívar et al., 1995 y 1997; Ortiz et al., 1999) Los niveles de FSH tienen un comportamiento que varía a lo largo del estudio, con una tendencia a disminuir significativamente en la segunda mitad del mismo. Estos resultados se pueden explicar en base al concepto que establece una diferencia en el mecanismo de regulación de FSH, respecto al de LH, debido a la participación de proteínas derivadas de las gónadas (inhibina, activina, folistatina) (Ying., 1988). Asimismo, la concentración de ambas gonadotropinas, sobre todo de LH, no aumentaron en respuesta a la caída en los niveles de estradiol, lo que sugiere una alteración del proceso de regulación de las gonadotropinas, por el eje hipotálamo-hipófisis-gónadas, en la cual se pierde el mecanismo de retroalimentación, como se ha reportado en ratas hembra y macho con síndrome nefrótico agudo (Glass et al., 1985; Elias et al., 1992; Menjívar et al., 1995) y machos con nefrosis crónica (Ortiz et al., 1999), y como ocurre además en la insuficiencia renal

(Handelsman., 1985; Veldhuis et al , 1993; Palmer., 1999). El resultado de esta probable alteración podría corresponder con anormalidad de la liberación pulsátil de LH, como se ha observado en hombres nefróticos (Menjívar et al., 1999), o con insuficiencia renal crónica (Veldhuis et al., 1993). O bien, podría haberse afectado la estructura proteica de las gonadotropinas, y por lo tanto su actividad biológica. Al respecto se sabe que el contenido de residuos de ácido siálico en estas hormonas puede variar y con ello su bioactividad. De este modo, las isoformas de LH y FSH que contienen menos residuos de ácido siálico (menos ácidas o básicas), poseen mayor potencia biológica (Lichtenberg et al., 1982; Ulloa-Aguirre et al., 1992). Así mismo, el contenido de ácido siálico y consecuentemente, la bioactividad de estas gonadotropinas, se regula por esteroides gonadales (Mukapadhyay., 1979; Leigh., 1994), los cuales disminuyeron en el presente estudio. En apoyo a la suposición anterior, se sabe que enfermedades sistémicas como la insuficiencia renal crónica y condiciones clínicas como el hipogonadismo, disminuyen la actividad biológica de LH (Beitins et al., 1981; Warner et al., 1985; Mitchel et al., 1994). Adicionalmente, respecto a la probable alteración en la regulación hormonal del eje reproductor, se debe considerar la posibilidad de que a nivel hipotalámico, la liberación pulsátil de GnRH se encuentre afectada, como propusieron Handelsman. (1985), Menjívar et al. (1995) y Ortiz et al. (1999).

En relación a los niveles circulantes de prolactina, tomando en cuenta que como ocurrió en el presente estudio, Menjívar et al. (1995) y Ortiz et al. (1999), también encontraron valores normales de esta hormona en ratas hembra y macho, respectivamente, se considera que el síndrome nefrótico no afecta la síntesis de prolactina. Lo anterior nos ha permitido establecer como en el trabajo de Ortiz et al (1999), una diferencia importante entre el síndrome nefrótico y la insuficiencia renal, ya que esta última se caracteriza entre otras, por

hiperprolactinemia, considerándose esta una posible causa de la disfunción sexual en dicha enfermedad (Sievertsen et al., 1980; Emmanouel et al., 1981; Exaire et al., 1982, Veldhuis et al., 1994; Palmer., 1999). En este sentido, la prolactina así como la creatinina, que resultaron normales en las hembras nefróticas, son indicios de que las ratas con nefrosis crónica no desarrollaron insuficiencia renal.

A diferencia del síndrome nefrótico agudo de ratas hembra, en las que la concentración sérica de progesterona disminuyó significativamente, diez días después de la administración del aminonucleósido de puomicina (Menjivar et al., 1995), en los animales con nefrosis crónica, esta fue normal durante 56 días y de ahí en adelante presentó una moderada disminución. Estos niveles normales de progesterona, se podrían explicar de acuerdo a la posibilidad de que la concentración de LH hubiese sido suficiente para estimular la síntesis de dicha hormona esteroide, o bien, debido al efecto luteotrópico de la prolactina en roedores, responsable de inducir la producción de progesterona (Smith et al , 1975; Armstrong et al , 1970; Wang y Chan., 1982, Cecim et al , 1995). Es probable también, que en los animales nefróticos, la progesterona se originara en el tejido intersticial (Short , 1982, Erickson et al , 1985). Nuestros resultados sugieren que en este caso, el padecimiento no afectó a la enzima P_{450} scc (el paso limitante) y reafirman la posibilidad de que la falla en la esteroidogénesis ovárica se debiera a una deficiencia en la P_{450} aromatasas. Así mismo, esto apoya la posible disfunción hipotálamo-hipofisiaria, en términos de la síntesis de gonadotropinas y su bioactividad

La anomalía en la función reproductiva que se presenta en este modelo experimental, podría ser consecuencia de un desequilibrio entre progesterona y estradiol, tomando en cuenta que la concentración de ésta última, disminuyó a lo largo de todo el estudio, y

considerando que se ha informado la existencia de un balance funcional entre ambas hormonas, que varía durante el ciclo reproductor y del cual dependen entre otros, el desarrollo folicular, la ovulación y la conducta sexual (Blaustein y Turcotte., 1989; Graham y Clarke., 1997, Xiao y Goff., 1998 y 1999). Es probable que el ligero incremento de estradiol, que se observa a partir del día 56, que aunque mantiene valores significativamente bajos, restableciera el balance entre progesterona y estradiol, ya que este incremento coincidió con la recuperación de la ciclicidad normal.

En contraste con los machos nefróticos, en los que la fertilidad decayó sólo durante los primeros 14 días (Ortiz et al., 1999), en este modelo de síndrome nefrótico, la capacidad reproductiva resultó crónicamente afectada. Por su parte, la rata con nefrosis crónica, conserva la capacidad de responder a la presencia del macho fértil, incrementando sus niveles de estradiol, normalizando su ciclo estral y siendo receptiva para la cópula. Por lo anterior, el aumento de estradiol en las ratas nefróticas, indica que las enzimas relacionadas con la esteroidogénesis se preservan, o bien, que si alguna de ellas hubiera resultado afectada, esta logra recuperarse. Esta capacidad de respuesta de la rata nefrótica es rápida, ya que los parámetros mencionados se presentaron desde el primer día en que las parejas permanecieron juntas. Cabe mencionar que a pesar de la mencionada respuesta, la fertilidad de la hembra nefrótica no se restablece totalmente. Estos resultados nos permiten plantear la hipótesis de que, la influencia que la rata macho fértil ejerce sobre la capacidad reproductiva de la hembra nefrótica, se produce a través de la secreción de feromonas, captadas por el órgano vomeronasal de la hembra, como ocurre también en humanos (Fox y Laird., 1970; Vandenberg., 1994; Stern y McClintock., 1998; Halem et al., 1999; Keverne., 1999), por lo que Weller. (1998) considera un eje órgano vomeronasal-hipotálamo-hipófisis-gónadas en la regulación de la función reproductiva. De acuerdo con lo anterior, nuestros resultados

coinciden con la existencia del eje mencionado. Así mismo, indican que en la nefrosis crónica de la rata hembra, éste conserva su funcionalidad. Estas observaciones abren la posibilidad del manejo terapéutico con feromonas, como una forma de restablecer la función reproductiva en el síndrome nefrótico.

A pesar de que se sabe que el síndrome nefrótico genera retraso en el crecimiento en niños (Padilla y Brem., 1989), y que así se ha observado también en ratas macho con nefrosis por aminonucleósido de puromicina (Nishimura et al , 1995, Trachtman et al 1996; Ortiz et al , 1999), en este estudio el peso corporal de los animales nefróticos no se modificó, posiblemente debido a que como en el trabajo de Thabet et al. (1994), en el que exploraron el efecto de factores de crecimiento en hembras nefróticas, las ratas empleadas eran adultas y por lo tanto ya no crecen.

Los resultados obtenidos en el presente estudio constituyen el primer reporte en el que se demuestra que la rata hembra con síndrome nefrótico crónico por aminonucleósido de puromicina, presenta alteraciones en la regulación hormonal del eje reproductor, que afectan la fertilidad. Estas alteraciones consisten en reducción permanente en las concentraciones de LH y estradiol, pérdida transitoria del patrón de ciclo estral y disminución crónica de la capacidad reproductiva. Además, permitió demostrar que la rata macho fértil ejerce una influencia importante sobre la función reproductiva de la hembra nefrótica y se sugiere que ésta se produce a través de un mecanismo relacionado con la secreción de feromonas. Estos datos aportan información importante al conocimiento de la función del eje reproductor en la nefrosis crónica y proporcionan la base para el estudio de las causas de la disfunción endócrino-reproductiva

CONCLUSIONES

- La rata hembra con síndrome nefrótico crónico, inducido con aminonucleósido de puromicina, presenta disfunción endócrino-reproductiva.
- La disfunción endócrina se manifiesta como modificación temporal del patrón de ciclo estral, reducción de los niveles de LH e hipoestrogenismo, permanentes y disminución crónica de la capacidad reproductiva.
- La presencia de la rata macho fértil contribuye a restablecer la ciclicidad normal y los niveles de estradiol, en la rata con síndrome nefrótico crónico
- En la nefrosis crónica de la rata existe alteración del mecanismo de regulación del eje hipotálamo-hipófisis-ovario, cuyas causas pueden ser diversas en sus diferentes componentes, y éstas merecen ser exploradas.

REFERENCIAS

- Amsterdam A, Rotmensch S.** 1990. Structure-function relationships during granulosa cell differentiation. *Endocr Rev* 8:309-337.
- Anderson S, Diamond R, Karnovsky MJ, Brenner BM** 1988. Mechanisms underlying transition from acute glomerular injury to late glomerular sclerosis in a rat model of nephrotic syndrome. *J Clin Invest* 82:1757-1768.
- Armstrong DT, Knudsen KA, Miller LS.** 1970. Effects of prolactin upon cholesterol metabolism and progesterone biosynthesis in corpora lutea of rats hypophysectomized during pseudopregnancy. *Endocrinology* 86:634-641.
- Armstrong DT, Papkoff H.** 1976. Stimulation of aromatization of exogenous and endogenous androgens in ovaries of hypophysectomized rats in vivo by follicle-stimulating hormone. *Endocrinology* 99: 1144-1151.
- Auger AP, Blaustein JD.** 1995. Progesterone enhances an estradiol-induced increase in Fos immunoreactivity in localized regions of female rat forebrain. *J Neurosci* 15:2272-2279.
- Axelrod J.** 1974. The pineal gland. A neurochemical transducer. *Science* 184:1341-1348.
- Baird DT.** 1990. The Ovary. In: Austin CR, Short RV, eds. *Reproduction in mammals. Book 3 Hormonal control of reproduction.* Great Britain: Cambridge University Press. pp 91-114.
- Beitins IZ, Axelrod L, Ostrea T, Little R, Badger MM.** 1981. Hypogonadism in a male with immunologically active, biologically inactive luteinizing hormone: Characterization of the abnormal hormone. *J Clin Endocrinol Metab* 52:1143-1149.
- Ben-Jonathan N, Mershon JL, Allen DL, Steinmetz RW.** 1996. Extrapituitary prolactin: Distribution, regulation, functions and clinical aspects. *Endocr Rev* 17:639-669.
- Bergman MD, Schachter BS, Karelus K, Combatsiaris EP, Garcia T, Nelson JF.** 1992. Up-regulation of the uterine estrogen receptor and its messenger ribonucleic acid during the mouse estrous cycle: The role of estradiol. *Endocrinology* 130:1923-1930.
- Billig H, Furuta I, Hsueh AJW.** 1993. Estrogens inhibit, androgens enhance ovarian granulosa cell apoptosis. *Endocrinology* 133:2204-2212.
- Blaustein JD, Turcotte JC.** 1989. Estradiol-induced progesterin receptor immunoreactivity is found only in estrogen receptor-immunoreactive cells in guinea pig brain. *Neuroendocrinology* 49:454-461.
- Bloom FE.** 1993. Mecanismos neuroendócrinos: Células y Sistemas. En: Yen SSC, Jaffe RB, eds. *Endocrinología de la Reproducción. Fisiología, Fisiopatología y Manejo Clínico.* Argentina. Ed. Médica Panamericana. pp. 20-42.
- Bole-Feysot Ch, Goffin V, Edery M, Binart N, Kelly PA.** 1998. Prolactin (PRL) and its receptor: actions, signal transduction pathways and phenotypes observed in PRL receptor knockout mice. *Endocr Rev* 19:225-268.
- Brenner BM, Hostetter TH, Humes HD.** 1978. Glomerular permselectivity: barrier function based on discrimination of molecular size and charge. *Am J Physiol* 234:F455-F460.
- Butcher RL, Collins WE, Fugo NW.** 1974. Plasma concentration of LH, FSH, Prolactin, Progesterone and Estradiol-17 β throughout the 4-day estrous cycle of the rat. *Endocrinology* 94:1704-1708.
- Cárdenas LM, Cortés yHS, Garza-Flores J.** 1989. Purificación de hormona foliculo estimulante de origen equino. *Vet Méx* 20:33-38.
- Carr BR** 1992. Disorders of the ovary and female reproductive tract. En: Wilson JD, Foster DW, Williams, eds. *Textbook of Endocrinology* USA: WB Saunders Co. pp. 733-798

- Catt KJ, Dufau ML.** 1993. Hormonas gonadotróficas: biosíntesis, secreción, receptores y acciones. En: Yen SSC, Jaffe RB, eds. *Endocrinología de la Reproducción: Fisiología, Fisiopatología y Manejo Clínico*. Argentina: Ed. Médica Panamericana pp. 126-203.
- Caulfield JP, Farquahar MG** 1978. Loss of anionic sites from the glomerular basement membrane in aminonucleoside nephrosis. *Lav Invest* 39:505-512.
- Cecim M, Kerr J, Bartke A.** 1995. Infertility in transgenic mice overexpressing the bovine growth hormone gene. luteal failure secondary to prolactin deficiency. *Biol Reprod* 52:1162-1166.
- Chang RLS, Deen WM, Robertson CR, Brenner BM.** 1975. Permselectivity of the glomerular capillary wall III. Restricted transport of polyanions. *Kidney Int* 8:212-218
- Comper WD, Glasgow EF.** 1995. Charge selectivity in kidney ultrafiltration. *Kidney Int* 47:1242-1251.
- Costagliola S, Niccoli P, Carayon P.** 1994. Glycoprotein hormone isomorphism and assay discrepancy. The paradigm of luteinizing hormone (LH). *J Endocrinol Invest* 17:291-299.
- De Sain-van der Velden MG, Kaysen GA, Barret HA, Stellaar F, Gadellaa MM, Voorbij HA, Reijngoud DJ, Rabelink TJ.** 1998. Increased VLDL in nephrotic patients results from a decreased catabolism while increased LDL results from increased synthesis. *Kidney Int* 53:994-1001.
- Derr RF, Alexander CS, Nagasawa HT.** 1967. Metabolism of puromycin aminonucleoside in the normal, "pre-nephrotic" and nephrotic rat. *Proc Soc Exp Biol Med* 125:248-252.
- Diamond JR, Bonventre VJ, Karnovsky JM.** 1986. A role for oxygen free radicals in aminonucleoside nephrosis. *Kidney Int* 29: 478-483.
- Diamond JR, Karnovsky MJ.** 1986. Focal and segmental glomerulosclerosis following a single intravenous dose of puromycin aminonucleoside. *Am J Pathol* 122:481-487
- Diamond JR, Karnovsky MJ.** 1987. Exacerbation of chronic aminonucleoside nephrosis by dietary cholesterol supplementation. *Kidney Int* 32:671-677.
- Diamond JR.** 1992. The role of reactive oxygen species in animal models of glomerular disease. *Am J Kidney Dis* 3:292-300.
- DiZerega GS, Richardson CM, Davis TF, Hodgen GD, Catt KJ.** 1980. Fluorescence localization of luteinizing hormone/human chorionic gonadotropin uptake in the primate ovary: Characterization of the preovulatory ovary. *Fertil Steril* 34:379.
- Donckerwolcke RA, Vande Walle JG.** 1997. Pathogenesis of edema formation in the nephrotic syndrome. *Kidney Int* 51, Suppl. 58:S-72-S-74.
- Eddy AA, Schnaper WH.** 1998. The nephrotic syndrome: From the simple to the complex. *Sem Nephrol* 18:304-316.
- Elias AN, Carreon G, Vaziri ND, Padlan MR, Oveisi F.** 1992. The pituitary-gonadal axis in experimental nephrotic syndrome in male rats. *J Lab Clin Med* 6:945-954.
- Emmanouel DS, Lindheimer MD, Katz AI.** 1980. Pathogenesis of endocrine abnormalities in uremia. *Endocr Rev* 1:28-44
- Emmanouel DS, Fang VS, Katz AI.** 1981. Prolactin metabolism in the rat: role of the kidney in degradation of the hormone. *Am J Physiol* 240:F437-F445.
- Exaire E, Paniagua R, Arceola F, Herrera J, Pérez A, Díaz S, Mondragón L, Gómez-Orta F, Villalpando S, Bermúdez JA.** 1982. Testicular functions in men with chronic renal failure and transplant recipients under bromocriptine therapy. *Arch Androl* 9:183-187

- Farquhar GM.** 1975. The primary glomerular filtration barrier-basement membrane or epithelial slits? *Kidney Int* 8: 197-211
- Fonseca V, Thomas M, Katrak A, Sweng P, Moorhead JF.** 1991. Can urinary thyroid hormone loss cause hypothyroidism? *Lancet* 338:475-476.
- Fox RR, Laird CW** 1970. Sexual cycles. En: Hafez ESE. *Reproduction and breeding techniques for laboratory animals*. Philadelphia, USA: Lea and Febiger. pp. 107-122.
- Freeman ME.** 1994. The neuroendocrine control of the ovarian cycle of the rat. En: Knobil E, Neil J. eds. *The Physiology of reproduction.*: Raven Press, New York, vol. 1. pp. 613-658.
- Fritz MA, Speroff L.** 1982. The endocrinology of the menstrual cycle, the interactions of folliculogenesis and neuroendocrine mechanisms. *Fertil Steril* 38:509-529
- Fujii T, Hoover DJ, Channing CP.** 1983. Changes in inhibin activity, and progesterone, oestrogen and androstendione concentrations, in rat follicular fluid throughout the oestrous cycle. *J Reprod Fert* 69. 307-314.
- Galle PC, Ulloa-Aguirre A, Chappel SC.** 1983. Effects of oestradiol, phenobarbitone and luteinizing hormone releasing hormone upon the isoelectric profile of pituitary follicle-stimulating hormone in ovariectomized hamsters. *J Endocr* 99:31-39
- Gavin LA, McMahon FA, Castle JN, Cavalieri RR.** 1978. Alterations in serum thyroid hormones and thyroxin-binding globulin in patients with nephrosis. *J Clin Endocrinol Metab* 46:125-130
- Gharib SD, Wierman ME, Shupnik MA, Chin WW.** 1990. Molecular biology of the pituitary gonadotropins. *Endocr Rev* 11:177-199.
- Glass AR, Beach J, Vigersky AR.** 1985. Hypogonadotropic hypogonadism in nephrotic rats: Increased sensitivity to negative feedback effects of testosterone. *Metabolism* 34: 574-579.
- Glitz D.** 1992. *Protein synthesis: translation and posttranslational modifications*. En Devlin TM. *Textbook of biochemistry with clinical correlations*. Wiley-Liss, New York. pp 723-766.
- Goldberg M.** 1986. Is the lamina lucida of the basement membrane a fixation artefact? *Eur J Cell Biol* 42.365-368.
- Goldstein DA, Haldimann B, Sherman D, Norman AW, Massry SG.** 1981. Vitamin D metabolites and calcium metabolism in patients with nephrotic syndrome and normal renal function. *J Clin Endocrinol Metab* 52:116-121.
- Golos TG, Strauss JF III, Miller WC.** 1987. Regulation of low density lipoprotein receptor and cytochrome P-450_{scc} levels in human granulosa cells. *J Steroid Biochem* 27:767-773.
- Goodman RL.** 1978. A quantitative analysis of the physiological role of estradiol and progesterone in the control of tonic and surge secretion of luteinizing hormone in the rat. *Endocrinology* 102: 142-150.
- Guyton AC, Hall JE.** 1996. *Textbook of Medical Physiology*. Ed. W.B Saunders Company Philadelphia, USA. pp 315-330.
- Graham JD, Clarke ChL.** 1997. Physiological action of progesterone in target tissues. *Endocr Rev* 18:502-519
- Gwynne JT, Strauss JF III.** 1982. The role of lipoproteins in steroidogenesis and cholesterol metabolism in steroidogenic glands. *Endocr Rev* 3:299-329.
- Halem HA, Cherry JA, Baum MJ.** 1999. Vomeronasal neuroepithelium and forebrain Fos responses to male pheromones in male and female mice. *J Neurobiol* 39:249-263.

- Handelsman DJ.** 1985. Hypothalamic-pituitary gonadal dysfunction in renal failure, dialysis and renal transplantation. *Endocr Rev* 6:151-182.
- Harman MS, Louvet J-P, Ross TG.** 1975. Interaction of estrogen and gonadotropins on follicular atresia. *Endocrinology* 96: 1145-1152.
- Harris RC, Ismail N.** 1994. Extrarenal complications of the nephrotic syndrome. *Am J Kidney Dis* 23:477-497.
- Hazum E, Conn PM.** 1988. Molecular mechanism of gonadotropin releasing hormone (GnRH) action: I. The GnRH receptor. *Endocr Rev* 9:379-386.
- Haug E, Gautvik KM.** 1976. Effects of sex steroids on prolactin secreting rat pituitary cells in culture. *Endocrinology* 99:1482-1489.
- Heckert LL, Daley JJ, Griswold MD.** 1992. Structural organization of the follicle-stimulating hormone receptor gene. *Mol Endocrinol* 6:70-80.
- Hillier SG, Whiterlaw PF, Smyth CD.** 1994. Follicular oestrogen synthesis: "two-cell, two-gonadotropin" model revisited. *Mol Cell Endocrinol* 100:51-54.
- Hinuma S, Habata Y, Fujii R, Kawamata Y, Hosoya M, Fukusumi S, Kitada Ch, Masuo Y, Asano T, Matsumoto H, Sekiguchi M, Kurokawa T, Nishimura O, Onda H, Fujino M.** 1998. A prolactin-releasing peptide in the brain. *Nature* 393:272-276.
- Hsueh AJW, Billig H, Tsafri A.** 1994. Ovarian follicle atresia: a hormonally controlled apoptotic process. *Endocr Rev* 15:707-723
- Hutchinson FN.** 1993. Proteinuria, hyperlipidemia, and the kidney. *Miner Electrolyte Metab* 19:127-136.
- Inokuchi S, Shirato I, Kabayashi N, Koide H, Tomino Y, Sakai T.** 1996. Re-evaluation of foot process effacement in acute puromycin aminonucleoside nephrosis. *Kidney Int* 50:1278-1287.
- Jakimiuk AJ, Weitsman SR, Brzechffa PR, Magoffin DA.** 1998. Aromatase mRNA expression in individual follicles from polycystic ovaries. *Mol Hum Reprod* 4:1-8.
- Johnson GL, Dhanasekaran N.** 1989. The G-protein family and their interaction with receptors. *Endocr Rev* 10:317-331.
- Jolly PD, Tisdall DJ, De'ath G, Heath DA, Lun S, Hudson NL, McNatty KP.** 1997. Granulosa cell apoptosis, aromatase activity, cyclic adenosine 3', 5'-monophosphate response to gonadotropins, and follicular fluid steroid levels during spontaneous and induced follicular atresia in ewes. *Biol Reprod* 56:830-836
- Kalra PS, Fawcett CP, Krulich L, McCann SM.** 1973. The effects of gonadal steroids on plasma gonadotropins and prolactin in the rat. *Endocrinology* 92: 1256-1268.
- Kanwar YS, Roscnzweig LJ.** 1982 Altered glomerular permeability as a result of focal detachment of the visceral epithelium. *Kidney Int* 21:565-574.
- Kerjaschki D, Vernillo AT, Farquhar MG.** 1985. Reduced sialylation of podocalyxin-the major sialoprotein of the rat kidney glomerulus- in aminonucleoside nephrosis. *Am J Pathol* 118:343-349.
- Keverne EB.** 1999. The vomeronasal organ. *Science* 286:716-720
- Knecht M, Nanta T, Katz MS, Catt KJ.** 1983 Regulation of adenylyl cyclase activity by follicle-stimulating hormone and gonadotropin-releasing hormone agonist in culture rat granulosa cells. *Endocrinology* 112:1247-1255.

ESTE TEXTO NO DEBE
 SER BORRADO DE LA BIBLIOTECA

- Kojima FN, Cupp AS, Stumpf TT, Zalesky DD, Roberson MS, Werth LA, Wolfe MW, Kittok RJ, Grotjan HE, Kinder JE.** 1995. Effects of 17 β -estradiol on distribution of pituitary isoforms of luteinizing hormone and follicle-stimulating hormone during the follicular phase of the bovine estrous cycle. *Biol Reprod* 52: 297-304.
- Krasnow JS, Hickey GJ, Richards JS.** 1990. Regulation of aromatase mRNA and estradiol biosynthesis in rat ovarian granulosa and luteal cells by prolactin. *Mol Endocrinol* 4:13-22.
- Kriz W, Gretz N, Lemley K.** 1998. Progression of glomerular diseases. Is the podocyte the culprit? *Kidney Int* 54:687-697.
- Kuhn K, Haas-Wohrle A, Lutz-Vorderbrugge A, Felten H.** 1998. Treatment of severe nephrotic syndrome. *Kidney Int* 53, Suppl. 64:S-50-S-53.
- Leigh AJ, Chapman AJ, Shakil T, Wilson CA.** 1994. The physicochemical, immunological and biological properties of rat pituitary and plasma LH. *J Reprod Fertil* 101. 489-499.
- Liang KH, Oveisi F, Vaziri ND.** 1996. Gene expression of hepatic cholesterol 7 α -hydroxylase in the course of puromycin-induced nephrosis. *Kidney Int* 49:855-860.
- Liang KH, Vaziri ND.** 1997. Down-regulation of hepatic lipase expression in experimental nephrotic syndrome. *Kidney Int* 51:1933-1937.
- Lichtenberg V, Weise HC, Schumacher M, Wollring C.** 1982. Analysis of human pituitary LH isohormones by radioimmunoassay and different in vitro bioassays. *Acta Endocrinol Suppl* 246:91-92.
- Louvet J-P, Vaitukaitis JL.** 1976. Induction of follicle-stimulating hormone (FSH) receptors in rat ovaries by estrogen priming. *Endocrinology* 99: 758-764.
- Luderer U, Schwartz NB.** 1994. Acute changes in pulsatile LH and FSH secretion after ovariectomy in rats: treatment with estradiol for 24 h suppresses LH, but not FSH, for at least 48 h. *J Reprod Fertil* 100: 613-621.
- Magil A.** 1996. Inhibition of progression of chronic puromycin aminonucleoside nephrosis by probucol, an antioxidant. *J Am Soc Nephrol* 7:2340-2347.
- Magil AB, Pichler RH, Johnson RJ.** 1997. Osteopontin in chronic puromycin aminonucleoside nephrosis. *J Am Soc Nephrol* 8:1383-1390.
- Manikkam M, Rajamechdran R.** 1997. Progesterone-induced atresia of the proestrous dominant follicle in the bovine ovary changes in diameter, insulin-like growth factor system, aromatase activity, steroid hormones, and apoptotic index. *Biol Reprod* 57:580-587.
- McFarland KC, Sprengel R, Phillips HS, Kohler M, Roseblit N, Nikolics K, Segaloff DL, Seeburg PH.** 1989. Lutropin-choriogonadotropin receptor: An unusual member of the G protein-coupled receptor family. *Science* 245:494-499.
- Menjívar M, Vilchis F, Cárdenas M, Cruz C, Merchant H, Pérez-Palacios G, Pedraza-Chaverri J.** 1995. Pituitary-ovarian dysfunction in rats with induced nephrotic syndrome. *Eur J Endocrinol* 132: 502-506.
- Menjívar M, Vilchis F, Cárdenas M, Cruz C, Pérez-Palacios G, Pedraza-Chaverri J.** 1997. Transient alteration of the reproductive function in nephrotic rats. *Life Sci* 61:1159-1167.
- Menjívar M, Ortiz G, Chew A, Vilchis F, Pedraza-Chaverri J, Larrea F, Correa.** 1999. Pituitary-testicular axis alterations in men with nephrotic syndrome. *Endocrine Society. 81st Annual Meeting, San Diego K. junio.*
- Messina A, Davis DJ, Dillante PC, Ryan GB.** 1987. Glomerular epithelial abnormalities associated with the onset of proteinuria in aminonucleoside nephrosis. *Am J Pathol* 126:220-229.
- Miner JH.** 1999. Renal basement membrane components *Kidney Int* 56:2016-2024.

- Mitchell R, Bauerfeld C, Schaefer F, Scharer K, Robertson WR.** 1994. Less acidic forms of luteinizing hormone are associated with lower testosterone secretion in men on haemodialysis treatment. *Clin Endocrinol* 41:65-73.
- Mukhopadhyay AK, Leidenberger FA, Lichtenberg V.** 1979. A comparison of bioactivity and immunoactivity of luteinizing hormone stored in and released in vitro from pituitary glands of rats under various gonadal states. *Endocrinology* 104:925-931.
- Nishimura Y, Nakayama M, Sato T, Tomita K, Inoue M.** 1995. Inhibition of puromycin-induced renal injury by a superoxide dismutase derivative with prolonged in vivo half-life. *Nephron* 70:460-465.
- Ogura A, Asano T, Matsuda J, Koura M, Nakagawa M, Kawaguchi H, Yamaguchi Y.** 1990. An electron microscopic study of glomerular lesions in hereditary nephrotic mice (ICGN strain). *Pathol Anat* 117:223-228.
- Ok-Kyong Park, Ramirez VD.** 1989. Spontaneous changes in LHRH release during the rat estrous cycle, as measured with repetitive push-pull perfusions of the pituitary gland in the same female rats. *Neuroendocrinology* 50: 66-72.
- Okuda S, Oh Y, Tsuruda H, Onoyama K, Fujimi S, Fujishima M.** 1986. Adriamycin-induced nephropathy as a model of chronic progressive glomerular disease. *Kidney Int* 29:502-510.
- Omura T, Morohashi K-i.** 1995. Gene regulation of steroidogenesis. *J Steroid Biochem Mol Biol* 53: 19-25.
- Orth S, Ritz E.** 1998. The nephrotic syndrome. *N Engl J Med* 338:1202-1211.
- Ortiz G, Vilchis F, Cárdenas M, Cruz C, Pedraza-Chaverri J, Menjivar M** 1999. Reproductive function in rats with chronic nephrosis. *J Reprod Fertil.* 117:223-228.
- Otsuka M, Kishi H, Arai K, Watanabe G, Taya K, Greenwald GS.** 1997. Temporal changes in inhibin, steroid hormones, and steroidogenic enzymes during induced follicular atresia in the hypophysectomized cyclic hamster. *Biol Reprod* 56:423-429.
- Padilla R, Brem AS.** 1989. Linear growth of children with nephrotic syndrome: effect of alkylating agents. *Pediatrics* 84:495-499.
- Palmer BF.** 1999. Sexual dysfunction in uremia. *J Am Soc Nephrol* 10:1381-1388.
- Pedraza-Chaverri J, Cruz C, Ibarra-Rubio MA, Chavez MA, Calleja C, Tapia E, Uribe MC, Romero L, Peña JC.** 1990. Pathophysiology of experimental nephrotic syndrome induced by puromycin aminonucleoside in rats. 1. The role of proteinuria, hypoproteinemia, and renin-angiotensin-aldosterone system on sodium retention. *Rev Invest Clin* 42:29-38.
- Pedraza-Chaverri J, Torres-Rodríguez GA, Cruz C, Mainero A, Tapia E, Ibarra-Rubio MA, Silencio JL.** 1994. Copper and zinc metabolism in aminonucleoside-induced nephrotic syndrome. *Nephron* 66:87-92.
- Peluso JJ, Luttmner S, Gruenberg ML.** 1984. Modulatory action of FSH on LH-induced follicular growth in rats. *J Reprod Fertil* 72: 173-177.
- Ponticelli A, Passi P.** 1994. Treatment of the nephrotic syndrome associated with primary glomerulonephritis. *Kidney Int* 46. 595-604
- Priest CA, Eckersell CB, Micevych PE.** 1995. Estrogen regulates preproenkephalin-A mRNA levels in the rat ventromedial nucleus: temporal and cellular aspects. *Brain Res Mol Brain Res* 28:251-262.
- Rani CSS, Sallhanick AR, Armstrong DT.** 1981. Follicle-stimulating hormone of luteinizing hormone receptor in cultured rat granulosa cells. An examination of the need for steroids in the induction process. *Endocrinology* 108:1379

- Rasmussen DD, Gambacciani M, Swartz W, Tueros VS, Yen SSC.** 1989. Pulsatile gonadotropin-releasing hormone release from the human medio basal hypothalamus in vitro: Opiate receptor-mediated suppression. *Neuroendocrinology* 49:150-156.
- Remuzzi A, Remuzzi G.** 1994. Glomerular perm-selective function. *Kidney Int* 45:398-402.
- Rich BH, Rosenfield RL, Moll GW Jr., Lucky AW.** 1982. Bioactive luteinizing hormone pituitary reserves during normal and abnormal male puberty. *J Clin Endocrinol Metab* 55:140-146.
- Richards JS, Ireland JJ, Rao CM, Bernath AG, Midgley RA, Reichert EL.** 1976 Ovarian follicular development in the rat: Hormone receptor regulation by estradiol, follicle stimulating hormone and luteinizing hormone. *Endocrinology* 99: 1562-1570.
- Richards JS.** 1979. Hormonal control of ovarian follicular development: 1978 perspective. *Res Prog Horm Res* 35: 343-369.
- Richards JS.** 1980. Maturation of ovarian follicles and interactions of pituitary and ovarian hormones on follicle cell differentiation. *Physiol Rev* 60:51-89.
- Ryan BG, Karnovsky JM.** 1975. An ultrastructural study of the mechanisms of proteinuria in aminonucleoside nephrosis. *Kidney Int* 8: 219-232.
- Schipper Y, Hop WCJ, Fauser CJM.** 1998. The follicle-stimulating hormone (FSH) threshold/window concept examined by different interventions with exogenous FSH during the follicular phase of the normal menstrual cycle: Duration, rather than magnitude, of FSH increase affects follicle development. *J Clin Endocrinol Metab* 83: 1292-1298.
- Seeburg PH, Adelman JP.** 1984. Characterization of cDNA for precursor of human luteinizing hormone releasing hormone. *Nature* 311:666-668.
- Sestak TL, Alavi N, Subbaiah PV.** 1989. Plasma lipids and acyltransferase activities in experimental nephrotic syndrome. *Kidney Int* 36:240-248.
- Sherwood NM, Chiappa SA, Sarkar DK, Fink G.** 1980. Gonadotropin-releasing hormone (GnRH) in pituitary stalk blood from proestrous rats: effects of anesthetics and relationship between stored and released GnRH and luteinizing hormone. *Endocrinology* 107: 1410-1417.
- Short RV.** 1982. Role of hormones in sex cycles. En: Austin CR, Short RV, eds. *Reproduction in mammals, Book 3 Hormones in Reproduction*. Great Britain: Cambridge University Press. pp 42-72.
- Sievertsen GD, Lim VS, Nakawatase Ch, Frohman LA.** 1980. Metabolic clearance and secretion rates of human prolactin in normal subjects and in patients with chronic renal failure. *J Clin Endocrinol Metab* 50:846-852.
- Siiteri PK, Thompson EA.** 1975. Studies on human placental aromatase. *J Steroid Biochem* 6:317-322.
- Simpson ER.** 1979. Cholesterol side-chain cleavage, cytochrome P450, and the control of steroidogenesis. *Mol Cell Endocrinol* 13:213-217.
- Smith MS, Freeman ME, Neill JD.** 1975. The control of progesterone secretion during the estrous cycle and early pseudopregnancy in the rat: Prolactin, gonadotropin and steroid levels associated with rescue of the corpus luteum of pseudopregnancy. *Endocrinology* 96:219-225.
- Stern K, McClintock MK.** 1998. Regulation of ovulation by human pheromones. *Nature* 392:177-179.
- Stocco DM, Clark BJ.** 1996. Regulation of the acute production of steroids in steroidogenic cells. *Endocr Rev* 17:221-244.
- Tencer J, Frinck I-G, Oquist BW, Alm P, Rippe B.** 1998. Size-selectivity of the glomerular barrier to high molecular weight proteins. Upper size limitations of shunt pathways. *Kidney Int* 53:709-715.

- Thabet AM, Challa A, Chan W, Liu F, Hintz LR, Chan CMJ.** 1994. Insulin-like growth factor and growth hormone receptor in nephrotic rats. *Am J Physiol* 266: E102-E106.
- Thakur V, Wlaker DP, Shah VS.** 1988. Evidence suggesting a role for hydroxyl radical in puromycin aminonucleoside-induced proteinuria. *Kidney Int* 34: 494-499.
- Tilly JL, Kowalski KI, Schomberg DW, Hsueh AJW.** 1992 Apoptosis in atretic ovarian follicles is associated with selective decreases in messenger ribonucleic acid transcripts for gonadotropin receptors and cytochrome P450 aromatase. *Endocrinology* 131:1670-1676.
- Timpl R.** 1989. Structure and biological activity of basement membrane proteins. *Eur J Cell Biol* 180:487-502.
- Tisher CC, Madsen KM.** 1991. *Anatomy of the Kidney.* En: Brenner BM, Rector FC. *The Kidney.* WB Saunders, Philadelphia. pp 3-75.
- Tonetta SA, DiZerega GS.** 1989. Intraovarian regulation of follicular maturation. *Endocr Rev* 10:205-229.
- Trachtman H, Maesaka J, Futterweit, Ma Ch, Valderrama E, Chan JCM, Chan W.** 1996. The effect of recombinant human insulin-like growth factor-I on chronic puromycin aminonucleoside nephropathy in rats. *Pediatr Res* 39: 13-19.
- Tryggvason K** 1993. Biochemistry and genetic diseases of glomerular basement membrane. *Sem Nephrol* 13:447-456.
- Tsonis CG, Carson RS, Findlay JK.** 1984. Relationships between aromatase activity, follicular fluid estradiol-17 β and testosterone concentrations, and diameter and atresia of individual ovine follicles. *J Reprod Fertil* 72: 153-163.
- Tune BM, Mendoza SA.** 1997. Treatment of the idiopathic nephrotic syndrome: Regimens and outcomes in children and adults. *J Am Soc Nephrol* 8:824-832
- Turek FW, Van Cauter E.** 1994. Rhythms in reproduction. En: Knobil E, Neil J, eds. *The Physiology of reproduction.*: Raven Press, New York, vol. 1, pp. 487-540.
- Turner HE, Wass AH.** 1997. Gonadal function in men with chronic illness. *Clin Endocrinol* 47:379-403
- Ueda N, Baliga R, Shah S.** 1996. Role of "catalytic" iron in an model of minimal change nephrotic syndrome. *Kidney Int* 49: 370-373.
- Ulloa-Aguirre A, Espinoza R, Damian-Matsumura P, Larrea F, Flores A, Morales L, Dominguez R.** 1988. Studies on the microheterogeneity of anterior pituitary follicle-stimulating hormone in the female rat. Isoelectric focusing pattern throughout the estrous cycle. *Biol Reprod* 38:70-78.
- Ulloa-Aguirre A, Cravioto A, Damian-Matsumura P, Junéncz M, Zambrano E, Díaz-Sánchez V** 1992. Biological characterization of the naturally occurring analogues of intrapituitary human follicle-stimulating hormone *Human Reprod* 7:23-30
- Vandenberg JG,** 1994. Pheromones and mammalian reproduction. En Knobil E y Neil J, eds. *The physiology of reproduction.* Raven Press, Ltd, New York, vol. 2, pp. 343-359.
- Van Vugt DA, Diefenbach WD, Alston E, Ferin M.** 1985. Gonadotropin-releasing hormone pulses in third ventricular cerebrospinal fluid of ovariectomized Rhesus monkeys: Correlation with luteinizing hormone. *Endocrinology* 117:1150-1558.
- Vaziri N D** 1993. Endocrinological consequences of the nephrotic syndrome *Am J Nephrol* 13: 360-364.
- Veldhuis JD, Wilkowski MJ, Zwart AD, Urban RJ, Lizarralde G, Iramanesh A, Bolton WK** 1993. 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 Endocr Metab* 76:648-654.

- Veldhuis JD, Iranmanesh A, Wilkowski MJ, Samojlik E.** 1994. Neuroendocrine alterations in the somatotrophic and lactotropic axes in uremic men. *Eu J Endocrinol* 131:489-498.
- Villanueva LA, Méndez Y, Ampuero S, Larrea F.** 1996. The prolactin inhibition of follicle-stimulating hormone-induced aromatase activity in cultured rat granulosa cells is in part tyrosine kinase and protein kinase-C dependent. *Mol Human Reprod* 2:725-731.
- Wang C, Chan V.** 1982. Divergent effects of prolactin on estrogen and progesterone production by granulosa cells of rat Graafian follicles. *Endocrinology* 110:1085-1093.
- Warner BA, Dufau ML, Santen RJ.** 1985. Effects of aging and illness on the pituitary testicular axis in men: qualitative as well as quantitative changes in luteinizing hormone. *J Clin Endocrinol and Metab* 60:263-268.
- Weening JJ, Rannke HG.** 1983. Glomerular permeability and polyanion in adriamycin nephrosis in the rat. *Kidney Int* 24:152-159.
- Weller A.** 1998. Communication through body odour. *Nature* 392:126-127.
- Wheeler DC, Bernard DB.** 1994. Lipid abnormalities in the nephrotic syndrome: Causes, consequences, and treatment. *Am J Kidney Dis* 23:331-346.
- Whiteside C, Prutis K, Cameron R, Thompson J.** 1989. Glomerular epithelial detachment, not reduced charge density, correlates with proteinuria in adriamycin and puromycin nephrosis. *Lab Invest* 61:650-660.
- Whiteside IC, Cameron R, Munk S, Levy J.** 1993. Podocytic cytoskeletal disaggregation and basement-membrane detachment in puromycin aminonucleoside nephrosis. *Am J Pathol* 142: 1641-1653.
- Xiao CW, Goff AK.** 1998. Differential effects of oestradiol and progesterone on proliferation and morphology of cultured bovine uterine epithelial and stromal cells. *J Reprod Fert* 112:315-324.
- Xiao CW, Goff AK.** 1999. Hormonal regulation of oestrogen and progesterone receptors in cultured bovine endometrial cells. *J Reprod Fert* 115:101-109.
- Yamauchi A, Imai E, Noguchi T, Tanako T, Yamamoto S, Mikami H, Fukahara Y, Fujii M, Orita M, Kamada T.** 1988. Albumin gene transcription is enhanced in liver of nephrotic rats. *Am J Physiol* 254:E676-E681.
- Yen SSC.** 1993. Ciclo menstrual humano: Regulación neuroendócrina. En: Yen SSC, Jaffe RB. eds. *Endocrinología de la Reproducción: Fisiología, Fisopatología y Manejo Clínico*. Argentina: Ed. Médica Panamericana. pp 296-332.
- Ying SV.** 1988. Inhibins, activins and follistatins: Gonadal proteins modulating the secretion of follicle-stimulating hormone. *Endocr Rev* 9:267-293.
- Zeleznik AJ, Schuler HM, Reichert LH.** 1981. Gonadotropin-binding sites in the rhesus monkey ovary: Role of the vasculature in the selective distribution of hCG to the preovulatory follicle. *Endocrinology* 109:356-362.