

# ORIGEM DA HIPERCOLESTEROLEMIA NA SÍNDROME NEFRÓTICA EXPERIMENTAL

## INTRODUÇÃO

Nas últimas duas décadas vêm sendo desenvolvidos esforços no sentido de se elucidar a etiopatogenia da hiperlipemia da síndrome nefrótica, por um lado devido à sua associação com certas alterações do metabolismo protéico que ocorrem nesta doença e por outro lado, por ser a síndrome nefrótica importante como modelo experimental para se compreenderem melhor os mecanismos envolvidos nas hiperlipoproteinemias de um modo geral.

Apesar de se conhecer a relação entre hipoalbuminemia e hiperlipemia (1, 2) e de sabermos que a correção desta hipoalbuminemia acarreta diminuição dos níveis séricos de lípidos (3, 4), a exata natureza desta hiperlipemia ainda é controversa.

Várias hipóteses têm sido testadas sem resultados satisfatórios. A absorção intestinal não influe (5) e a administração de tiroxina não corrige a hiperlipemia (6) apesar de alguns autores encontrarem atividade da triiodotironina (7), ou ainda P.B.I. baixos (6, 8, 9). Outros autores, utilizando diversos métodos químicos procuraram medir colesterol ou triglicérides em compartimentos teciduais visando identificar um possível aumento de síntese ou redistribuição compartimental (10, 11, 12, 13, 14), ou ainda um bloqueio de remoção periférica (4, 15, 16, 17, 18). Quanto ao déficit de remoção, os resultados são contraditórios indicando ora perda de atividade da lipase lipoprotéica na urina (4, 15) ou queda da atividade lipolítica do soro (16, 17), ora mostrando a manutenção desta atividade em níveis normais (18). Como a dextrana e outras macromoléculas corrigem a hiperlipemia do nefrótico sem todavia alterarem os níveis albuminêmicos (19, 20) e sem serem carreadores de ácidos graxos, o possível papel da lipase lipoprotéica na elevação dos níveis séricos de triglicérides e de outros lípidos causada pela falta de receptor de ácidos graxos, no caso a albumina, fica relegado a um segundo plano, passando a ter importância apenas quando a hipoalbuminemia se torna severa.

O aumento de síntese nunca foi comprovado, pois através do uso de precursores radioativos ou de lípidos marcados, em alguns casos foi observada síntese aumentada (21, 22, 23, 24), podendo estar igual ou até diminuída em relação a controles em outros trabalhos (12, 25, 26). Estes resultados inconclusivos se devem ao fato de os autores que se utilizam da incorporação de acetato ou outro precursor radioativo, ou ainda que se valem do radiocolesterol, não conhecerem o "pool" e a reciclagem dos precursores e, também ignorarem a velocidade de distribuição compartimental do radiocolesterol e outros lípidos radioativos.

Cabe salientar ainda que, para o estudo da hiperlipoproteinemia da nefrose experimental, o colesterol tem preferência de escolha por não sofrer degradação a gás carbônico e água (27) e ser excretado nas fezes (27), permitindo assim o acompanhamento de seu metabolismo nos vários tecidos, desde que seja utilizada metodologia adequada.

Procuramos neste trabalho, através da utilização de cromatografia gás-líquido de esteróides e de métodos aperfeiçoados de extração e purificação do colesterol tecidual, elucidar a etiologia da hipercolesterolemia da síndrome nefrótica experimental.

## MÉTODOS

Ratos da raça Wistar, machos, com peso inicial de 90 a 100 gramas, foram colocados em gaiolas metabólicas individuais e alimentados através da técnica do pair-feeding com uma dieta constituída de 41% de caseína, 46% de carboidratos e 2,5% de gorduras sob a forma de ácido linoléico puro, perfazendo um total de 4 calorias por grama. Cada rato recebeu 190 miligramas por dia, isto é, 3 a 4 vezes o mínimo estipulado em ácidos graxos essenciais por dia (28), sendo as dietas isentas de esteróides animais ou vegetais. A análise da dieta por cromatografia gás-líquido (29) constatou a presença de apenas 14 microgramas de esteróides por grama de dieta. Na duração do experimento, foi feito o controle do peso e a ingestão média dos animais foi de  $9,94 \pm 0,55$  gramas/

dia para controles e  $7,92 \pm 0,74$  gramas/dia no grupo experimental (diferença não significativa).

A experiência desenvolveu-se em três períodos apresentados a seguir:

### 1. Nefrotização dos Ratos

Para indução da nefrose, os animais receberam soro de coelho anti-rim de rato preparado conforme a técnica de Heymann e Lund (3); a nefrotização foi feita por meio de doses pequenas e intervaladas, sendo que cada animal recebeu apenas soro suficiente para obtenção de nefrose experimental franca porém branda, com manutenção de bom estado geral, mantendo ingestão normal da dieta sem diarreia, ascite ou edema aparente. O controle da nefrotização foi feito através da análise de proteinúria pelo método do biureto (31), sendo os animais considerados adequadamente nefrotizados, quando esta atingiu o mínimo de 5 miligramas/hora de proteína na urina, o que levou aproximadamente duas semanas.

Porém, convém salientar que no período de colheita de amostras, todos os animais apresentaram uma proteinúria 1,5 a 2,5 vezes superior ao estipulado. Na fase experimental não houve óbito. Ao final da experiência foi feita a comprovação do estado nefrótico por meio da análise do colesterol sérico (32) e das proteínas plasmáticas (31). No total foram utilizados 24 ratos, sendo 16 nefróticos e 8 controles.

### 2. Balanço de Esteróides em Ratos

Após a obtenção de uma proteinúria adequada, foi efetuado o balanço de esteróides em ratos nefróticos e controles com duração de 15 a 20 dias, período durante o qual foi feita colheita contínua das fezes. O material fecal foi secado a vácuo, homogenizado e guardado a  $-20^{\circ}\text{C}$  para posterior utilização. Após o período de balanço, os animais foram anestesiados com éter e exsanguinados por punção da aorta abdominal. Foi retirado o sistema nervoso central, cujo "pool" de colesterol de permuta lenta (33), não interferiria numa experiência a curto prazo, e também o intestino delgado e grosso para evitar a contaminação fecal da carcassa. Foi separado o fígado do restante da carcassa, e ambos foram reservados para análise do seu conteúdo em colesterol.

### 3. Análise do Colesterol nos Vários Compartimentos

A carcassa foi inicialmente saponificada em meio aquoso a  $110^{\circ}\text{C}$ , durante 50 minutos, em NaOH 5 N., sob agitação magnética constante, após o que, foi extraído e processado o colesterol seguindo a metodologia de análise cromatográfica estabelecida por Grundy e colaboradores (29) para esteróides neutros. Também o fígado foi submetido a saponificação por 1 hora, em solução etanólica de NaOH 2 N., sob refluxo constante; posteriormente foi extraído e purificado o colesterol para análise num cromatógrafo gás-líquido modelo 27 de ionização de chama da C&G. Foi verificada a validade do emprego das diversas etapas do processamento metodológico nestes dois compartimentos e foi observada uma perda de material sistemática porém variável da ordem de 30% ao longo das etapas de extração e de purificação do colesterol e, portanto foi acrescido às amostras colesterol-4-C 14 (New England Nuclear, U.S.A.) durante a saponificação, possibilitando a posterior correção dos dados. Fígado e carcassa foram também analisados pelo método químico 32, após extração e purificação, para efeitos de comparação com a medida do colesterol pela cromatografia.

A análise dos esteróides fecais neutros e ácidos foi efetuada de acordo com a metodologia pré-estabelecida 30,34; neste caso devido a perdas de material ocorridas durante o processamento metodológico também foram acrescidos marcadores no início da saponificação. No caso de esteróides neutros o marcador foi colesterol-4-C 14 e para ácidos biliares utilizamos  $1,2\text{H}^3$  - ácido cólico (New England Nuclear, U.S.A.).

## RESULTADOS

### 1. Obtenção de um Grupo Experimental Homogêneo

Como primeiro passo para a utilização de um modelo experimental adequado ao estudo da hipercolesterolemia da síndrome nefrótica, procuramos obter um grupo experimental o mais homogêneo possível. Na tabela 1 e na figura 1 vemos os resultados referentes ao "status" nefrótico dos animais. Mesmo sem edema ou ascite aparente, os dados indicam haver uma nefrose de fato.

### 2. Controle de Peso dos Animais

Devido a impossibilidade de se controlar efetivamente o peso dos animais no grupo experimental pois não há garantias de ausência de edema e ascite em presença de hipoalbuminemia, foi feita a opção de se manter a ingestão rigorosamente igual nos dois grupos. O ganho de peso foi igual nos dois grupos em toda a fase final da experiência (10 dias). Porém, uma vez sacrificados os animais e separadas as suas carcassas, estas apresentaram um valor significativamente menor no grupo nefrótico devido à retirada do fígado que em nefróticos se apresenta hiperplasiado e indicando ter havido um acúmulo de água da ordem de 10%. Os resultados das pesagens e a ingestão se encontram na tabela 2 e na figura 2.

Tabela 1. Parâmetros de Comprovação do Estado Nefrótico do Grupo Experimental Comparado ao Grupo Controle

	controles <sup>§</sup>	nefróticos <sup>§</sup>	p <sup>§§</sup>
N <sup>o</sup> animais	4	11	
proteinúria mg/dia	49,19±10,03 <sup>1</sup>	245,51±42,01 <sup>2</sup>	0,001
colesterol plasmát. mg./100 ml	64,53±7,90	325,34±44,87	0,001
proteínas totais plasmát. g./100ml	6,56±0,75	6,27±0,97	N.S.
albumina plasmática g./100ml	2,81±0,27	1,49±0,56	0,001

§ — os números apresentados são as médias e os desvios-padrão dos valores obtidos em cada grupo

§ § — p corresponde ao nível de significância da diferença entre as duas médias quando submetidas ao teste t de Student;

N.S.: não significante

1 — n igual a 8

2 — n igual a 16

Tabela 2. Resultados das Pesagens e Ingestão em Nefróticos e Controles.

	controles <sup>§</sup>	nefróticos <sup>§</sup>	p <sup>§§</sup>
n <sup>o</sup> animais	8	16	
ingestão g./dia	7,94±0,55	7,92±0,75	N.S.
peso final g.	142,65±3,30	138,26±13,40	N.S.
peso da carcassa g.	129,15±7,03	112,42±14,30	0,01
peso do fígado g.	6,49±1,28	8,82±1,76	0,01
peso da carcassa e fígado g.	135,64±8,11	121,19±15,74	0,05

§ — os números apresentados são as médias e os desvios-padrão dos valores obtidos em cada grupo

§ § — p corresponde ao nível de significância da diferença entre as duas médias quando submetidas ao teste t de Student.

N.S.: não significante

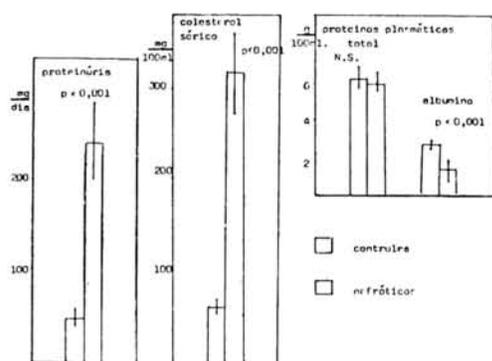


Figura 1 — Dados Referentes à Nefrotização dos Animais.

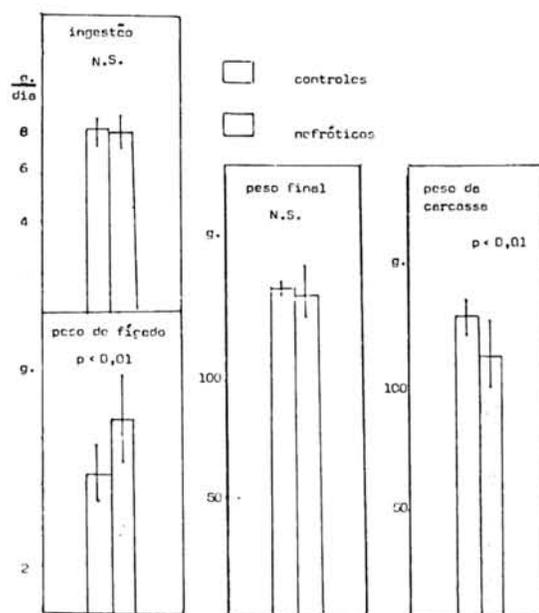


Figura 2 — Resultados das Pesagens e Ingestão dos Animais.

### 3. Análise do Conteúdo em Colesterol dos Vários Compartimentos Corpóreos de Animais Controles e Nefróticos

Como o método cromatográfico para carcassa e fígado foi adaptado em nosso laboratório baseado no procedimento de Grundy e colaboradores (29, 34), para sua melhor adequação, submetemos amostras de tecidos a análise química paralelamente a cromatografia gás-líquido. Verificamos que a cromatografia gás-líquido fornece resultados mais homogêneos além de significativamente mais baixos (a análise estatística para amostras correlacionadas indicou uma diferença significativa ao nível de 0,5%). Os gráficos 1 e 2 mostram que a dispersão dos resultados da análise da carcassa em animais controles em torno da reta de regressão é menor ao ser empregada a cromatografia gás-líquido indicando a menor variabilidade dos dados.

A análise dos cromatogramas destas amostras indicou a presença de ácidos graxos contaminantes anteriores ao pico do padrão e, de fato, ao testarmos pelo método químico, padrões de colesterol na presença de ácidos graxos como únicos contaminantes, verificamos haver grande interferência na dosagem de colesterol pelo ácido linoleico (ver Gráfico 3). Como as amostras são saponificadas e portanto há hidrólise dos triglicérides teciduais, presentes em alta porcentagem (26% do peso seco) (35), ocorre a liberação de grande quantidade de ácido linoleico, que é extraído em quantidades variáveis juntamente com o colesterol, sendo a causa dos resultados mais altos e menos homogêneos obtidos pelo método químico quando comparado à cromatografia gás-líquido.

Na tabela 3 encontramos os valores médios, bem como a variabilidade dos resultados obtidos na análise do colesterol da carcassa, fígado e amostras fecais pela cromatografia gás-líquido (ver figura 3 e 4 para melhor ilustração destas medidas). Apesar de algumas amostras de urina terem sido analisadas, quantitativamente a excreção de esteróides por esta via, mesmo em nefróticos, é de tão pouco significado (75 a 300 microgramas/dia) que não foi considerada em nosso estudo.

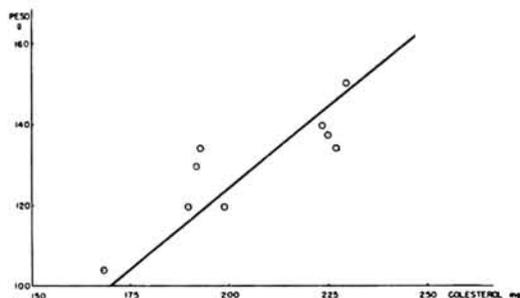


GRÁFICO I— Colesterol Tecidual total pelo método cromatográfico reta de regressão sendo  $r = 0,8926$  e  $y = 13,12 + 0,557x$   $t_b = 6,57$  ( $p < 0,0005$ )

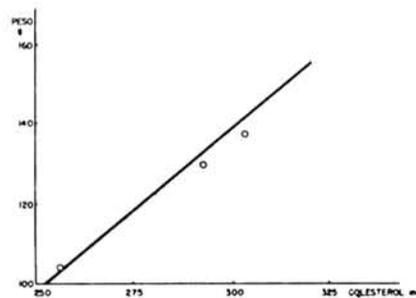
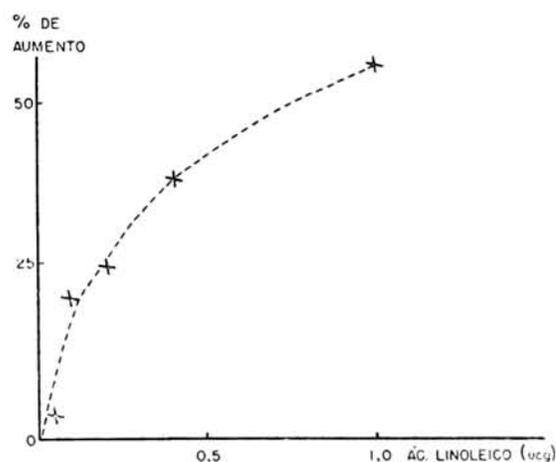


GRÁFICO II— Colesterol tecidual total pelo método químico reta de regressão sendo  $r = 0,7334$  e  $y = 133,57 \pm 1,198x$   $t_b = 3,06$  ( $p < 0,002$ )

GRÁFICO III— Porcentagem de variação dos resultados obtidos pelo método químico na dosagem de padrões de colesterol na presença de quantidades crescentes de ácido linoleico quando comparados à dosagem de colesterol puro.



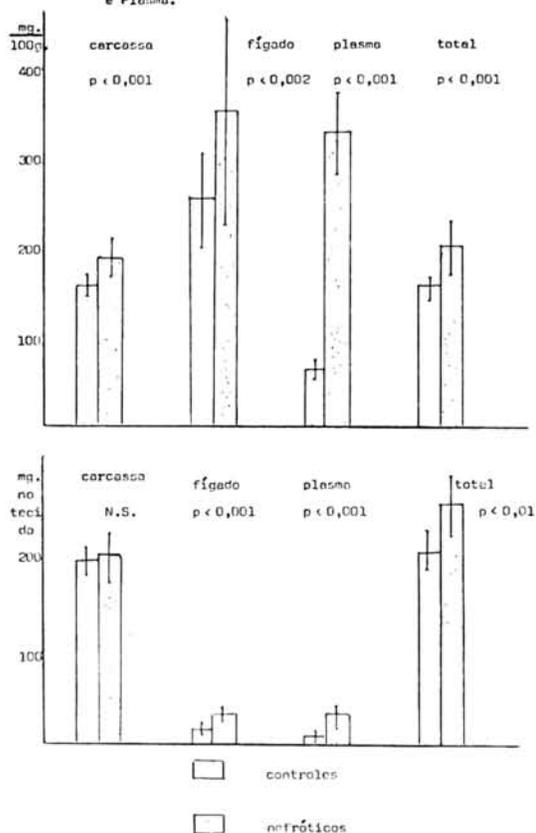
AMOSTRA	ucg, LINOLEICO	% DE AUMENTO
1	0,04	3,4
2	0,08	21,0
3	0,20	25,4
4	0,40	38,6
5	1,00	55,4

Tabela 3. Resultados da Análise do Colesterol em Carcassa, Fígado e Plasma e da Excreção Fecal de Esteróides Neutros e Ácidos.

		controles <sup>1</sup>	nefróticos <sup>1</sup>	p <sup>2</sup>
n <sup>o</sup> de animais		8	16	
carcassa	mg/100g. tecido	155,81 ± 10,31	183,23 ± 25,87	0,001
	mg/carcassa	201,06 ± 14,64	204,56 ± 30,67	N.S.
fígado	mg/100g. fígado	243,90 ± 45,04	349,65 ± 107,37	0,002
	mg/fígado	15,65 ± 3,64	29,94 ± 7,21	0,001
plasma	mg/100g. plasma	64,49 ± 7,92	325,38 ± 44,85	0,001
	mg/plasma total	6,42 ± 0,83	31,96 ± 5,80	0,001
total <sup>3</sup>	mg/100g <sup>4</sup> tecido corpóreo	151,88 ± 12,02 <sup>5</sup>	201,99 ± 25,19 <sup>6</sup>	0,001
	mg/rato	215,19 ± 16,72 <sup>5</sup>	264,93 ± 35,28 <sup>6</sup>	0,01
esteróides neutros	mg/100g. <sup>7</sup> tecido	2,79 ± 0,68	3,09 ± 0,74	N.S.
	mg/dia	3,77 ± 0,81	3,78 ± 1,02	N.S.
esteróides ácidos	mg/100g. <sup>7</sup> tecido	4,17 ± 0,78	4,51 ± 1,52	N.S.
	mg/dia	5,65 ± 1,07	5,43 ± 1,68	N.S.

- 1 - os números apresentados são as médias e os desvios-padrão dos valores obtidos em cada grupo  
 2 - p corresponde ao nível de significância da diferença entre as duas médias quando submetidas ao teste t. N.S.: não significante  
 3 - total corpóreo: somatória do colesterol da carcassa, do fígado e plasma. No caso, o peso do plasma foi calculado como sendo 7 por cento do peso final do animal antes do sacrifício  
 5 - n igual a 5  
 6 - n igual a 12  
 7 - o peso indicado é a soma dos pesos de carcassa e fígado

Figura 3. Resultados da Análise do Colesterol em Carcassa, Fígado e Plasma.



Observação: total=carcassa, fígado e plasma somados

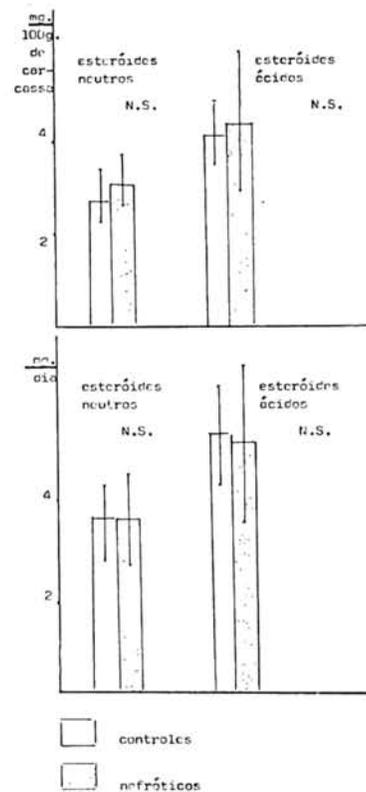


Figura 4 - Resultados da Análise Fecal em Animais Controles e Nefróticos

## DISCUSSÃO

A análise das várias possibilidades referentes a expansão do compartimento plasmático de colesterol na síndrome nefrótica experimental e clínica, nos mostra que esta pode ser decorrente de:

- 1) – bloqueio de utilização periférica causada por deficiência de lipase lipoproteica, cuja importância é secundária visto que apenas contribue na nefrose severa em presença de hipoalbuminemia acentuada (vide introdução).
- 2) – redistribuição fígado-plasma ou tecido-plasma.
- 3) – bloqueio da excreção fecal de esteróides.
- 4) – aumento na síntese hepática de colesterol.
- 5) – uma combinação dos fatores acima mencionados.

Os nossos resultados mostram inequivocamente ter havido um aumento na síntese corpórea de colesterol no grupo nefrótico. Se olharmos a tabela 3 ou a figura 3 veremos que apesar do colesterol global da carcassa não estar aumentado em nefróticos quando comparados a controles, a correção das medidas pelo peso da carcassa evidencia um real aumento, já que este peso está significativamente menor no grupo nefrótico. Apesar disto, o colesterol corpóreo total está aumentado mesmo sem correção pelo peso, não deixando margem à dúvidas quanto à síntese ocorrida no animal experimental.

Convém salientar que, baseados em Miettinen (36), que mostra haver proporcionalidade entre massa corpórea de colesterol e sua excreção diária nas fezes, em humanos, poderíamos associar a esta síntese exaustiva, um bloqueio de excreção, já que o colesterol corpóreo em nefróticos é mais elevado que em controles.

Finalmente, visando esclarecer a relação existente entre este aumento de síntese de colesterol e os outros parâmetros presentes no quadro nefrótico, nos reportamos a vários trabalhos efetuados com o intuito de elucidar as alterações do metabolismo protéico na nefrose experimental e de pacientes humanos.

É sabido que a infusão de albumina ou de macromoléculas como a dextrana e a polivinilpirrolidona corrigem a hiperlipoproteinemia do nefrótico (19, 20) e que é a hipoosmolaridade do plasma e não a hipoalbuminemia "per se" que regula a síntese hepática de albumina (37, 38, 39). Sabemos também da existência, na síndrome nefrótica, de uma canalização de aminoácidos da periferia para síntese hepática de proteínas (40), e da ocorrência de uma queda na glicólise e neoglicogênese intrahepáticas fornecendo assim o substrato necessário à síntese aumentada de proteínas e de lípidos pelo fígado (41). Assim, podemos elaborar uma hipótese situando o incremento de síntese de colesterol como sendo decorrente de uma maior disponibilidade de carreador protéico. A síntese hepática deflagrada pela queda de pressão oncótica no plasma seria não só de albumina mas de proteínas plasmáticas em geral, incluindo as lipoproteínas. A maior disponibilidade de carreador, por sua vez, seria o gatilho da síntese hepática de colesterol em algum local do hepatócito, local este possivelmente diverso do sítio de armazenamento, já que também se presencia aumento no conteúdo hepático de colesterol, ou seja não há o bloqueio desta síntese por retroalimentação negativa como seria de se esperar (25).

Por outro lado, convém salientar que a velocidade de saída das lipoproteínas do fígado bem como a velocidade de síntese do colesterol não são conhecidos nesta experiência, podendo ser que o maior conteúdo hepático de colesterol seja apenas devido à velocidade de síntese maior.

A aquisição destes conhecimentos traz uma colaboração efetiva a compreensão da fisiopatologia das hiperlipoproteinemias sendo de importância na elucidação da interrelação entre metabolismo de lípidos e de proteínas na regulação da lipemia. Este trabalho pode ser realizado graças a adaptação da cromatografia gás-líquido para esteróides fecais à análise tissular do colesterol.

## RESUMO

Origem da hipercolesterolemia na nefrose experimental crônica.

Foi efetuado o balanço contínuo de esteróides (15 a 20 dias) em 16 ratos nefróticos (N) e 8 controles (C). Em toda a experiência (duração de aproximadamente 2 meses), os animais ingeriram quantidades rigorosamente iguais de uma dieta balanceada e isenta de esteróides e, foi medida regularmente sua proteinúria para avaliação do grau de nefrose. Também foram medidos o colesterol e albumina no plasma.

Após o período experimental, os ratos foram exsanguinados. Fígado, carcassa (excluídos o intestino e o sistema nervoso central) e fezes foram analisadas por cromatografia gás-líquido de esteróides após hidrólise alcalina, extração e cromatografia camada fina das amostras. As perdas de material foram corrigidas pela edição de colesterol e ácido cólico radioativos às amostras no início do processamento metodológico.

Os resultados mostram que a excreção fecal em N permanecer igual a de C mas que houve um real acréscimo no conteúdo em colesterol de sangue, fígado e carcassa indicando ter havido uma síntese aumentada em N.

A possível relação entre o metabolismo protéico e síntese hepática de colesterol na síndrome nefrótica é discutida.

## BIBLIOGRAFIA

- 1 – Baxter, J. H.; Goodman, H. C. & Havel, R. J.: Serum lipid and lipoprotein alterations in nephrosis. *J. Clin. Invest.* 39: 455 – 465, 1960.
- 2 – Edwards, K. D.: Antilipaemic drugs and nephrotic syndrome. *Prog. biochem. Pharmacol.* 7: 370 – 426, 1972.
- 3 – Baxter, J. H.; Goodman, H. C. & Allen, J. C.: Effects of infusions of serum albumin on serum lipids and lipoproteins in nephrosis. *J. Clin. Invest.* 40: 490 – 498, 1961.
- 4 – Rosenman, R. H. & Friedman, M.: In vivo studies of the role of albumin in endogenous and heparin-activated lipemia clearing in nephrotic rats. *J. Clin. Invest.* 36: 700 – 706, 1957.
- 5 – Rosenman, R. H.; Friedman, M. & Byers, S. O.: Intestinal absorption of cholesterol by the nephrotic rat. *Circ. Res.* 11: 256 – 257, 1954.
- 6 – Rosenman, R. H. & Smith, M. K.: Effects of altered thyroid function on plasma lipids of experimentally nephrotic rats. *Proc. Soc. exp. Biol. Med.* 98: 444 – 448, 1958.
- 7 – Shafir, E.; Bremer, T.; Gustman, A.; Orevi, M.; Diamant, S. & Mayer, M.: Hepatic metabolic pathways and hormonal status in experimental nephrotic syndrome. *Isr. J. med. Sciences.* 8: 271 – 284, 1972.
- 8 – Kalant, N.; McIntyre, W. C. & Wilansky, D. L.: Thyroid function in experimental nephrotic syndrome. *Endocrinology* 64: 333 – 343, 1959.
- 9 – Recant, L. & Riggs, D. S.: Thyroid function in nephrosis. *J. Clin. Invest.* 31: 789 – 797, 1952.
- 10 – Heymann, W. & Hackel, D. B.: Hepatic and extrahepatic depot lipids in rats with experimental nephrotic hyperlipemia. *Metabolism* 6: 169 – 174, 1957.
- 11 – Heymann, W. & Hackel, D. B.: Effect of ethionine on blood and depot lipids in experimental nephrotic hyperlipemia. *Proc. Soc. exp. Biol. Med.* 92: 41 – 43, 1956.
- 12 – Marsh, J. B. & Drabkin, D. L.: Metabolic channeling in experimental nephrosis. II. Lipid metabolism. *J. biol. Chem.* 212: 633 – 639, 1955.
- 13 – Rosenman, R. H.; Friedman, M. e Byers, S. O.: The distribution of cholesterol and total lipids in the nephrotic rat. *J. Clin. Invest.* 34: 700-703, 1955.
- 14 – Friedman, M.; Rosenman, R. H. & Byers, S. O.: Lipid and cholesterol content of hepatic lymph in experimental nephrosis. *Am. J. Physiol.* 190: 180-182, 1957.
- 15 – Jensen, H.; Rossing, N.; Andersen, S. B. e Jarnum, S.: Albumin metabolism in the nephrotic syndrome in the adult. *Clin. Sci.* 33: 445-457, 1967.
- 16 – Yamada, M. e Matsuda, I.: Lipoprotein lipase in clinical and experimental nephrosis. *Clin. chim. Acta* 30: 787-794, 1970.
- 17 – Hyman, L. R.; Wong, P. W. K. e Grossman, A.: Plasma lipoprotein lipase in children with idiopathic nephrotic syndrome. *Pediatrics* 44: 1021-1024, 1969.
- 18 – Bojarczuk, C.: Hiperlipidemia da síndrome nefrótica. Tese de doutoramento apresentada à Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, 1972.
- 19 – Allen, J. C.; Baxter, J. H. e Goodman, H. C.: Effects of dextran, PVP, gamma globulin on the hyperlipidemia of experimental nephrosis. *J. clin. Invest.* 40: 499-508, 1961.
- 20 – Fredrickson, D. S.; Ono, K. e Davis, L. L.: Lipolytic activity of post-heparin plasma in hypertriglyceridemia. *J. Lipid Res.* 4: 24-33, 1963.
- 21 – Marsh, J. B. e Drabkin, D. L.: Metabolic channeling in experimental nephrosis. V. Lipid metabolism in the early stages of the disease. *J. Biol. Chem.* 230: 1083-1091, 1958.
- 22 – Saffran, J. e Kalant, N.: Mechanism of hyperlipemia in experimental nephrosis. *J. Clin. Invest.* 38: 1717-1724, 1959.
- 23 – McKenzie, I. F. C. e Nestel, P. J.: Studies on the turnover of triglyceride and esterified cholesterol in subjects with nephrotic syndrome. *J. Clin. Invest.* 47: 1685-1695, 1968.
- 24 – Radding, C. M. e Steinberg, D.: Studies on the secretion and synthesis of serum lipoproteins by rat liver slices. *J. clin. Invest.* 39: 1560-1569, 1960.
- 25 – Dubach, U., Recant, L., Hatch, E. e Koch, M. B.: Negative feedback mechanism of cholesterol synthesis in experimental nephrosis. *Proc. Soc. exp. Biol. Med.* 106: 136-139, 1961.
- 26 – Malmendier, C. L.: Tissue distribution of C<sup>14</sup> after the intravenous injection of labeled free fatty acids and chylomicrons in nephrotic rats. *J. clin. Invest.* 41: 185-195, 1962.
- 27 – Siperstein, M. D. e Chaikoff, I. L.: C<sup>14</sup> cholesterol. III. Excretion of carbons 4 and 26 in feces, urine and bile. *J. biol. Chem.* 193: 93-104, 1952.
- 28 – National Academy of Sciences: Nutrient requirements of domestic animals. Washington, D. C., National Academy of Sciences, National Research Council, 1962.
- 29 – Miettinen, T. A.; Ahrens Jr., E. H. e Grundy, S. M.: Quantitative isolation and gas-liquid chromatographic analysis of total dietary and fecal neutral steroids. *J. Lipid Res.* 6: 411-424, 1965.
- 30 – Heymann, W. e Lund, H. Z.: Nephrotic syndrome in rats. *Pediatrics* 7: 691-706, 1951.
- 31 – Kurzer, F.: Biuret and related compounds. *Chem. Revs.* 56: 95-197, 1956.
- 32 – Searcy, R. L.; Berquist, L. M. e Jung, R. C.: Rapid ultramicro estimation of serum total cholesterol. *J. Lipid Res.* 1: 349-351, 1960.
- 33 – Wilson, J. D.: The measurement of the exchangeable pools of cholesterol in the baboon. *J. clin. Invest.* 49: 655-665, 1970.

- 34 – Grundy, S.M.; Ahrens Jr., E. H. e Miettinen, T. A.: Quantitative isolation and gas-liquid chromatographic analysis of total fecal bile acids. E. J. Lipid Res. 6: 397-410, 1965.
- 35 – Oscai, L. B. e Holloszy, J. O.: Effects of weight changes produced by exercise, food restriction or overeating on body composition. J, clin. Invest. 48: 2124-2128, 1969.
- 36 – Miettinen, T. A.: Detection of changes in human cholesterol metabolism. Annals clin. Res. 2: 300-320, 1970.
- 37 – Katz, J.; Bonorris, G.; Okuyama, S. e Sellers, A. L.: Albumin synthesis in perfused liver of normal and nephrotic rats. Amer. J. Physiol. 212: 1255-1260, 1967.
- 38 – Huberman, A.: The "in vitro" effect of colloid osmotic pressure on albumin synthesis in the normal rat liver. Revista de Investigacion Clinica 25: 321-330, 1973.
- 39 – Dich, J.; Hansen, S. E. e Thieden, H. I. D.: Effect of albumin concentration and colloid osmotic pressure on albumin synthesis in perfused rat liver. Acta physiol. Scand. 89: 352-358, 1973.
- 40 – Drabkin, D. L.; Marsh, J. B. e Braun, G. A.: Aminoacid mobilization in plasma protein biosynthesis in experimental nephrosis. Metabolism 11: 967-977, 1962.
- 41 – Shafir, E.; Brenner, T.; Gutman, A e Orevi, M.: Hepatic metabolic pattern in experimental nephrotic syndrome: glycolysis, gluconeogenesis and aminoacid metabolism. Amer. J. Physiol. 226:

### ASSINATURAS

Durante o ano de 1977 serão publicados seis número da REVISTA DE MEDICINA, em tiragem bimestral. Se você estiver interessado em adquiri-los, basta preencher o cartão abaixo e enviá-lo junto com uma ordem de pagamento ou cheque nominal em nome do DEPARTAMENTO CIENTÍFICO DO CENTRO ACADÊMICO OSWALDO CRUZ no valor de Cr\$ 80,00 (oitenta cruzeiros) à Av. Dr Arnaldo, 455, sub-solo – Departamento Científico – São Paulo – Capital. Caso você se interesse por outros números da R.M. deste ano, ou de anos anteriores, basta escrever para o mesmo endereço, aos cuidados do Secretário da Revista.

NOME: .....

Médico  — Residente  — Acadêmico

Especialidade: ..... CRM N.o: .....

Formado pela: ..... Em: .....

Cursando: ..... Ano — Faculdade: .....

Residência 1.o  2.o  3.o

End.: ..... N.o .....

Caixa Postal: ..... CEP.: .....

Cidade: ..... Estado: .....

Cheque  Ord. de pagamento

DATA: .....

.....  
Assinatura

