

Avances en la fisiopatología del edema en el síndrome nefrótico

H. Rondon-Berrios

Division of Nephrology, Department of Internal Medicine, University of New Mexico School of Medicine, Albuquerque, Nuevo México (EE.UU.)

Nefrología 2011;31(2):148-54

doi:10.3265/Nefrologia.pre2010.Nov.10724

RESUMEN

El edema es una manifestación clínica frecuente del síndrome nefrótico (SN); sin embargo, el mecanismo fisiopatológico responsable de la retención de sodio ha sido un tema de intenso debate durante décadas. Muchas observaciones clínicas y experimentales no apoyan a la hipótesis clásica o del *underfill* en la formación del edema nefrótico. En numerosos pacientes, el edema propio del SN se produce por un defecto renal intrínseco en la excreción de sodio y es independiente de factores sistémicos (p. ej., hipoalbuminemia, disminución del volumen arterial efectivo o hiperaldosteronismo secundario). El punto de la nefrona donde se produce la retención de sodio en el SN es el túbulo colector cortical. La activación del canal de sodio epitelial a ese nivel es responsable de la retención de sodio en la patología que nos ocupa. Una barrera glomerular defectuosa propia del SN permitiría el paso de enzimas proteolíticas o sus precursores que a su vez activarían el canal de sodio epitelial causando de esa manera su retención y consiguiente edema.

Palabras clave: Edema. Síndrome nefrótico. Hipoalbuminemia. Canal epitelial de sodio. Plasmina.

INTRODUCCIÓN

El edema se define como la acumulación de fluido en el espacio intersticial y es una manifestación clínica frecuente del síndrome nefrótico (SN). Sin embargo, su fisiopatología ha sido un área de intenso debate durante décadas. La hipótesis

New insights into the pathophysiology of oedema in nephrotic syndrome

ABSTRACT

Oedema is a common clinical manifestation of nephrotic syndrome. However, the pathophysiological mechanism of sodium retention in nephrotic syndrome has been intensely debated for decades. Several clinical and experimental observations argue against the classic or "underfill" hypothesis of oedema formation in nephrotic syndrome. In many patients, oedema formation in nephrotic syndrome is due to the kidney being intrinsically unable to excrete salt and is unrelated to systemic factors (i.e. hypoalbuminaemia, decreased "effective" arterial blood volume, and secondary hyperaldosteronism). The cortical collecting duct is the nephron site of sodium retention in nephrotic syndrome. Activation of the epithelial sodium channel in the cortical collecting duct is responsible for sodium retention in nephrotic syndrome. In nephrotic syndrome, a defective glomerular filtration barrier allows the passage of proteolytic enzymes or their precursors, which have the ability to activate the epithelial sodium channel, thereby causing the subsequent sodium retention and oedema.

Keywords: Oedema. Nephrotic syndrome. Hypoalbuminemia. Epithelial sodium channel. Plasmin.

clásica o también llamada hipótesis del *underfill* postula que la retención de sodio en el SN es un fenómeno secundario a la disminución del volumen arterial efectivo (por ende el término *underfill*) y seguiría la siguiente secuencia de eventos (figura 1): la pérdida urinaria de proteínas propia del SN, especialmente de albúmina, produciría hipoalbuminemia, que a su vez causaría una disminución de la presión oncótica plasmática. Esta disminución en la presión oncótica plasmática ocasionaría un «*imbalance*» en las fuerzas de Starling, produciendo la translocación de fluido del espacio intravascular hacia el espacio intersticial, causando una disminución en el

Correspondencia: Helbert Rondon-Berrios

Division of Nephrology, Department of Internal Medicine,
University of New Mexico School of Medicine, ACC 5. MSC10 5550.
1 University of New Mexico, 87131-0001.
Albuquerque, New Mexico, USA.
HRondon@salud.unm.edu

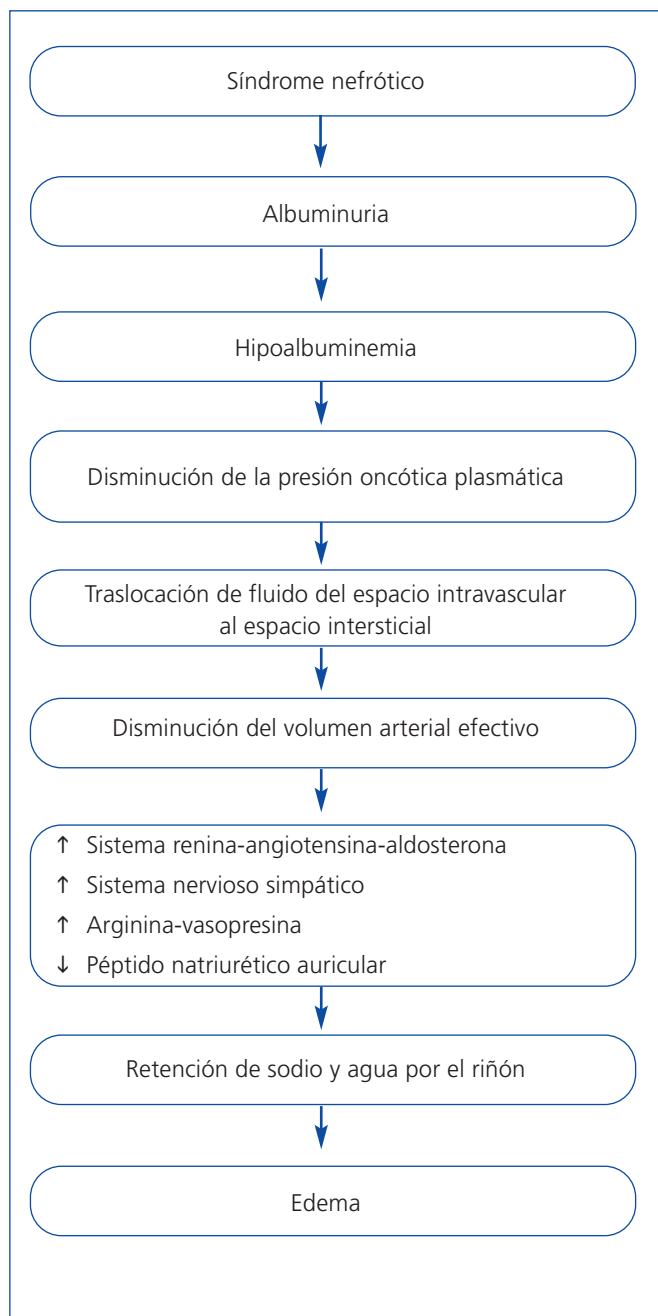


Figura 1. Hipótesis clásica o del *underfill* de la formación del edema en el síndrome nefrótico.

volumen arterial efectivo y, por consiguiente, hipovolemia relativa. Esta última produciría la activación del sistema renina-angiotensina-aldosterona y del sistema nervioso simpático, el incremento de la liberación de hormona antidiurética y la inhibición de la liberación del péptido natriurético auricular. La activación de todos estos sistemas produciría la retención de sodio y agua por parte del riñón con la consiguiente aparición del edema. Sin embargo, diversas observaciones

experimentales y clínicas realizadas durante el transcurso de los años no apoyarían esta hipótesis.

OBSERVACIONES CLÍNICAS Y EXPERIMENTALES EN CONTRA DE LA HIPÓTESIS DEL *UNDERFILL*^{1,2} (tabla 1)

Pacientes y ratas con niveles bajos de albúmina sérica no desarrollan edema ni retención de sodio

Joles et al.³ realizaron mediciones de la presión oncótica plasmática e intersticial en ratas Nagase, ratas mutantes que se caracterizan por presentar analbuminemia. Los investigadores no observaron signos de retención de sodio en estos animales. Lecomte et al.⁴ realizaron, a su vez, observaciones en pacientes con analbuminemia congénita y observaron que en su mayoría no presentaban edema. Muchas otras series publicadas de pacientes con analbuminemia congénita no comunican la aparición de edema como manifestación clínica principal⁵. Steyl et al. estudiaron a 50 pacientes hospitalizados en una sala de medicina general en Sudáfrica⁶. Observaron que 24 pacientes tenían una albúmina sérica menor de 3,5 g/dl, en su mayoría asociada con inflamación crónica (tuberculosis). De estos 24 pacientes, sólo seis presentaron edema. Estos 6 pacientes con edema tuvieron otro diagnóstico alternativo que explicaba la presencia de edema de forma clara (*cor pul-*

Tabla 1. Argumentos en contra de la hipótesis del *underfill* de la formación del edema en el síndrome nefrótico

1. Pacientes y ratas con niveles bajos de albúmina sérica no desarrollan edema ni retención de sodio.
2. La natriuresis en la fase de recuperación del síndrome nefrótico comienza cuando la proteinuria desaparece, pero antes de que la albúmina sérica vuelva a la normalidad.
3. La disminución absoluta en la presión oncótica plasmática no afecta al volumen sanguíneo en el síndrome nefrótico.
4. Los volúmenes plasmático y sanguíneo son normales o se encuentran incrementados en el síndrome nefrótico.
5. Expansión del espacio intravascular con albúmina no aumenta la natriuresis en pacientes con síndrome nefrótico.
6. La activación del sistema renina-angiotensina-aldosterona no está implicada en la generación del edema en el síndrome nefrótico.
7. La adrenalectomía bilateral no previene la retención de sodio en el síndrome nefrótico experimental en ratas.

revisiones cortas

monale). En el estudio, los investigadores encontraron algunos pacientes con albúminas séricas menores a 1,5 g/dl, pero ninguno de ellos presentó edema.

La natriuresis en la fase de recuperación del síndrome nefrótico comienza cuando la proteinuria desaparece, pero antes que la albúmina sérica vuelva a la normalidad⁷

La disminución absoluta en la presión oncótica plasmática no afecta al volumen del espacio intravascular en el síndrome nefrótico

Estudios realizados en perros sugieren que la disminución absoluta en la presión oncótica plasmática no afectaría al volumen plasmático y sanguíneo⁸. Pacientes con SN producido por glomerulonefritis fueron estudiados mediante la medición de la presión oncótica plasmática e intersticial: 12 pacientes en fase activa, 3 pacientes en fase de remisión completa y 3 pacientes en fase de remisión parcial⁹. Los investigadores encontraron que la presión oncótica plasmática y la intersticial estaban disminuidas en la fase activa del SN, pero regresaron lentamente a valores normales durante la fase de remisión. Durante todo este tiempo el gradiente de presión oncótica entre el plasma y el intersticio fue constante⁹. Estos estudios demuestran que en realidad es el cambio en el gradiente de presión oncótica entre el plasma y el intersticio, y no solamente la disminución absoluta de la presión oncótica plasmática, el responsable de la translocación de fluido del espacio intravascular al espacio intersticial.

Los volúmenes plasmático y sanguíneo son normales o se encuentran incrementados en el síndrome nefrótico

Geers et al. realizaron medidas del volumen plasmático en 88 pacientes con SN y 51 pacientes control¹⁰. El volumen plasmático fue medido a través de la administración de albúmina radiactiva ¹³¹I y el volumen sanguíneo se calculó basándose en el volumen plasmático y en el hematocrito. En los pacientes con SN, el volumen plasmático y sanguíneo se encontraba elevado en el 14%, era normal en el 84% y era bajo en sólo el 2% de los casos.

La expansión del espacio intravascular con albúmina no aumenta la natriuresis en pacientes con síndrome nefrótico

El efecto de una infusión intravenosa de albúmina hiperoncótica (75 g) se observó en pacientes con SN¹¹. Después de la infusión de albúmina el volumen sanguíneo se incrementó hasta un 120% del valor basal. La actividad de renina plasmática y la concentración de aldosterona sérica disminuye-

ron hasta quedar suprimidas. La excreción urinaria de sodio no cambió de manera significativa.

La activación del sistema renina-angiotensina-aldosterona no está implicada en la generación del edema en el síndrome nefrótico

Brown et al. administraron captopril a un grupo de pacientes con SN y no observaron ningún cambio en la excreción de sodio a pesar de suprimir la concentración de aldosterona sérica¹². En otro estudio, Usberti et al. observaron hallazgos similares al usar espironolactona¹³.

La adrenalectomía no previene la retención de sodio y el desarrollo de ascitis en el síndrome nefrótico experimental en ratas

De Seigneux et al. estudiaron a un grupo de ratas a las que extrajeron la glándula adrenal de manera bilateral y que fueron suplementadas con dexametasona para evitar la insuficiencia adrenal¹⁴. Los investigadores indujeron el SN mediante la administración de puromicina. Los animales desarrollaron edema y retención de sodio a pesar de haber sido adrenalectomizados; estos hallazgos sugieren que la aldosterona no desempeña un papel fundamental en la retención de sodio propia del SN.

HIPÓTESIS ALTERNA O HIPÓTESIS DEL OVERFILL DE LA FORMACIÓN DEL EDEMA EN EL SÍNDROME NEFRÓTICO

Contraria a la hipótesis clásica, la hipótesis alterna, o también llamada hipótesis del *overflow*, postula que en muchos pacientes con SN la retención de sodio es un fenómeno renal primario y se produciría por un defecto renal intrínseco en la excreción de sodio, lo que a su vez produciría la expansión del volumen plasmático (por ende el término *overflow*). Aunque el mecanismo molecular de la retención de sodio en el riñón no ha sido dilucidado con claridad, existen varios estudios al respecto que describiremos a continuación.

Mecanismos moleculares de la retención de sodio en el síndrome nefrótico

Las primeras evidencias que apoyaron la hipótesis del *overflow* fueron las observaciones realizadas por Chandra¹⁵ e Ichikawa¹⁶. La mayor parte del conocimiento adquirido acerca de los mecanismos moleculares de la retención de sodio en el SN ha derivado del uso del modelo animal de SN inducido por la acción del aminonucleósido puromicina (PAN), el cual, al ser administrado a ratas, produce proteinuria masiva y retención de sodio. La histopatología renal del SN in-

ducido por PAN se asemeja a la enfermedad de cambios mínimos¹⁷⁻¹⁹. Usando la técnica de la perfusión unilateral selectiva de la arteria renal izquierda con PAN descrita inicialmente por Bricker en perros²⁰ y luego por Hoyer en ratas²¹, Chandra¹⁵ e Ichikawa¹⁶ demostraron que la proteinuria y la retención de sodio estaban confinadas al riñón perfundido con PAN (el modelo unilateral de SN permite el estudio de un riñón proteinúrico y un riñón control en el mismo animal). Es importante recalcar que la retención de sodio por parte del riñón perfundido con PAN ocurrió en la ausencia de una reducción en la concentración plasmática de proteínas, lo que sugiere que la retención de sodio observada en el SN se debe a un defecto renal intrínseco en la excreción de sodio y no a factores extrínsecos o sistémicos como la hipoalbuminemia.

El túbulo colector cortical es el punto de reabsorción de sodio en el síndrome nefrótico

Ichikawa, además, realizó estudios de micropunción de segmentos tubulares de nefronas superficiales en el modelo unilateral de SN en ratas y demostró que la cantidad de sodio al final del túbulo contorneado distal es igual en el riñón proteinúrico y en el riñón normal, pero la orina final del riñón nefrótico contenía tres veces menos sodio que la orina proveniente del riñón normal, lo que sugiere que la estimulación de la reabsorción de sodio en el SN ocurre en el túbulo colector cortical¹⁶.

El papel de NHE3 en la retención de sodio en el síndrome nefrótico

A pesar de los hallazgos realizados por Ichikawa et al., otros estudios han postulado que la retención de sodio en el SN podría ocurrir en otros segmentos de la nefrona. El 66% del sodio filtrado por el glomérulo es reabsorbido en el túbulo proximal gracias a la acción del cotransportador $\text{Na}^+\text{-H}^+$ (NHE3); entonces sería razonable pensar que este segmento contribuiría, al menos en parte, a la retención de sodio observada en el SN. Besse-Eschmann et al. encontraron que la actividad de NHE3 (normalizada para la cantidad de proteína) estaba aumentada en un 88% en ratas tratadas con PAN comparadas con ratas control²². NHE3 está presente formando oligómeros en dos localizaciones del borde «en cepillo» del túbulo proximal: 1) en la región intervallosa, donde está asociado al receptor megalina (proteína responsable de la reabsorción de albúmina y otras sustancias filtradas por el glomérulo), representando la forma inactiva de NHE3, y 2) en la región microvellosa, donde se encuentra libre y representa la forma activa del transportador²³. Los investigadores también observaron que en ratas tratadas con PAN existía movimiento de NHE3 de la región intervallosa a la región microvellosa²² y sugirieron que la albúmina filtrada por la barrera glomerular defectuosa propia del SN podría disociar a NHE3 de la me-

galina e incrementar el movimiento de NHE3 a las microvellosidades para que pueda ejercer desde ahí su función de retención de sodio²².

El papel de la bomba $\text{Na}^+\text{/K}^+\text{-ATPasa}$ en la retención de sodio en el síndrome nefrótico

Otro transportador de sodio que ha sido implicado en la retención de sodio en el SN es la bomba $\text{Na}^+\text{/K}^+\text{-ATPasa}$. Deschenes et al. observaron que la actividad de esta bomba estaba aumentada en ratas tratadas con PAN comparadas con ratas control²⁴. Estos autores también observaron que el incremento en la actividad de la bomba se encontraba confinado al túbulo colector cortical²⁴. Sin embargo, muchos estudios posteriores han demostrado que la actividad de esta bomba, así como la de otros transportadores de sodio (como NHE3), en ratas tratadas con PAN, están disminuidas si se comparan con las de ratas control²⁵.

El papel de ENaC en la retención de sodio en el síndrome nefrótico

Otro de los transportadores de sodio que ha sido implicado con bastante fuerza en la retención de sodio en el SN es el canal de sodio epitelial o canal de sodio sensible a amilorida (ENaC). ENaC está compuesto de tres subunidades: α , β y γ . Los primeros estudios llevados a cabo sobre el papel de ENaC en la retención de sodio en el SN demostraron que no se producía un incremento de la expresión de las proteínas (y del ARN mensajero) de ninguna de las tres subunidades de ENaC en ratas tratadas con PAN si se comparaban con ratas control²⁶. Sin embargo, estudios posteriores han demostrado un incremento en la expresión de las proteínas de las tres subunidades de ENaC^{14,25}, así como un aumento en el tráfico de estas subunidades del citosol hacia la membrana plasmática apical²⁵.

ENaC es regulado por diversos factores; uno de ellos es la enzima 11- β -hidroxiesteroide deshidrogenasa tipo 2 (11 β HSD2). La activación del receptor mineralocorticoide produce un incremento en la actividad de ENaC mediante el aumento en la expresión del gen que codifica la subunidad α ENaC y una disminución en su reciclado intracelular mediado por la ligasa de ubiquitina Nedd4-2²⁷. El cortisol tiene la misma afinidad que la aldosterona por el receptor mineralocorticoide; sin embargo, la aldosterona actúa como el único agonista de este receptor a pesar de que la concentración de cortisol en el plasma es 100 veces la concentración de aldosterona. La enzima 11 β HSD2 suele proteger al receptor mineralocorticoide de la activación por cortisol al transformarlo localmente en cortisona, la cual es inactiva sobre este receptor. No obstante, en estados patológicos, como en el síndrome de exceso aparente de mineralocorticoides, la actividad de la enzima 11 β HSD2 se encuentra disminuida, lo que permite que el cortisol sea capaz de activar el receptor mineralocorticoide y

revisiones cortas

producir retención de sodio²⁸. Kim et al. mostraron en un estudio que la actividad de la enzima 11 β HSD2 estaría disminuida en ratas con SN producido por nefropatía membranosa inducida por cloruro de mercurio comparadas con ratas control, lo cual podría explicar la retención de sodio en estos animales²⁹. Sin embargo, otros estudios no han confirmado estos hallazgos^{14,30}.

Otro factor importante en la regulación de ENaC son las serina proteasas. Éstas son un grupo de enzimas proteolíticas que van a escindir las subunidades α y γ de ENaC en sitios específicos y, de esta manera, aumentarán la conductancia al sodio a través del canal^{31,32}. En condiciones experimentales, la conductancia al sodio en ENaC que no ha sido expuesto a proteólisis por las serina proteasas es baja. El primer paso en la activación de ENaC por serina proteasas ocurre en el complejo de Golgi, donde una proteasa llamada furina escindirá a la subunidad α en los sitios R205 y R231 (liberando así un péptido inhibidor de 26 aminoácidos) y a la subunidad γ en el sitio R143³³. Si en condiciones experimentales se midiera la conductancia de este ENaC ésta sería intermedia. Después de este paso enzimático, el canal es ensamblado en la membrana plasmática apical. Para que ENaC esté totalmente activo y con una conductancia de sodio alta, éste deberá ser activado por una segunda proteasa (como prostasina, elastasa de neutrófilo o elastasa pancreática)³⁴.

Las primeras observaciones acerca de la activación de ENaC por serina proteasas en estados proteinúricos fueron realizadas por Kastner et al.³⁵. Passero et al.³⁶ encontraron que las corrientes de ENaC aumentaban cuando ENaC se exponía a plasmina, lo que sugeriría que la plasmina actuaría como una segunda proteasa y sería capaz de activar ENaC. Passero también descubrió que la plasmina activa ENaC escindiendo la subunidad γ en el sitio K194³⁶.

La evidencia quizás más convincente hasta la actualidad acerca del papel de las serina proteasas en la activación de ENaC en el SN es la recientemente publicada por Svenningsen et al.³⁷. Estos investigadores observaron que la orina de ratas nefróticas (tratadas con PAN) incrementaba las corrientes de ENaC y que la amilorida las abolía. Svenningsen et al. investigaron la razón por la cual la orina de estas ratas nefróticas activaba ENaC y encontraron que las corrientes de ENaC eran abolidas cuando ENaC era expuesto a aprotinina, un inhibidor conocido de serina proteasas. Otra observación importante fue que la orina de ratas nefróticas no incrementaba las corrientes de ENaC cuando era sometida a calor. Cuando se midió la actividad de serina proteasas en esta orina, la actividad resultó elevada. Todos estos hallazgos sugerían que la orina de ratas nefróticas contenía una serina proteasa capaz de activar ENaC³⁷. Varios estudios anteriores realizados en pacientes con SN han documentado la presencia de plasminógeno en la orina de dichos pacientes^{38,39}. Después de varios pasos de purificación y espectrofotometría de masa (MALDI-TOF), Svenningsen et al. encontraron que las seri-

na proteasas responsables de la activación de ENaC en la orina de estas ratas nefróticas eran plasminógeno y/o plasmina³⁷. La orina de ratas nefróticas contenía ambas sustancias, pero el plasma de estos animales sólo contenía plasminógeno, lo que sugeriría que la plasmina era formada en la orina *in situ* y no era filtrada del plasma³⁷. Se sabe que la plasmina proviene de la activación de plasminógeno a través de la acción enzimática de la urokinasa que se encuentra normalmente presente en el túbulo colector⁴⁰. Svenningsen et al. observaron que las células del túbulo colector cortical de las ratas nefróticas tenían actividad de urokinasa³⁷. Estos investigadores, además, observaron que mientras que la combinación de plasminógeno con urokinasa incrementaba las corrientes de ENaC en oocitos, el plasminógeno y la urokinasa eran incapaces de hacerlo de manera aislada³⁷. Otro hallazgo importante de este grupo de investigadores es que la amilorida no sólo bloquea ENaC sino que también bloquea la enzima urokinasa responsable de la conversión de plasminógeno a plasmina³⁷. Cabe resaltar que Svenningsen et al. fueron capaces de reproducir todos los hallazgos descritos anteriormente con orina proveniente de pacientes con SN³⁷. En resumen, el plasminógeno presente en el plasma probablemente se filtra a través de la barrera glomerular defectuosa propia del SN y es luego convertido en plasmina por la acción de la urokinasa presente en el túbulo colector. La plasmina posteriormente activaría ENaC y se produciría retención de sodio con la consiguiente aparición de edema (figura 2).

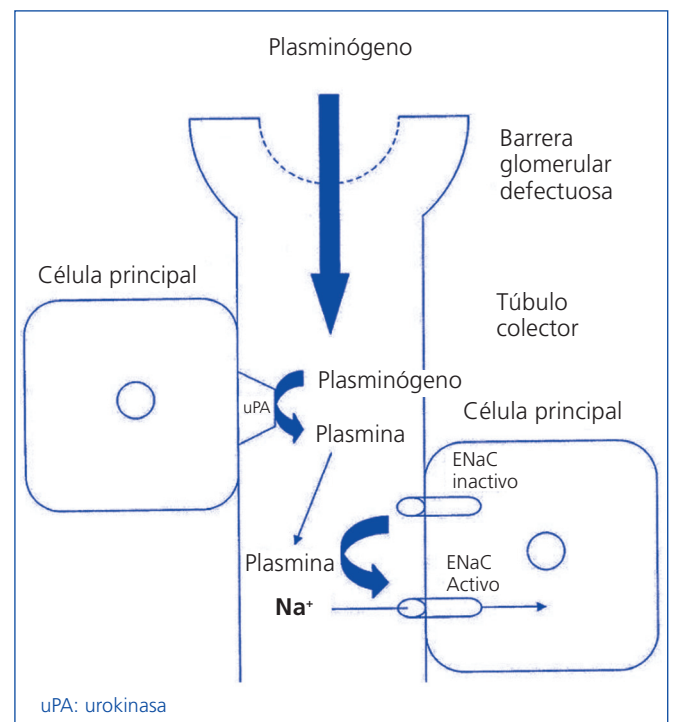


Figura 2. Plasmina en el túbulo colector cortical activa ENaC.

CONCEPTOS CLAVE

1. En un gran número de pacientes con SN, la fisiopatología del edema no estaría relacionada con la presencia de hipoalbuminemia, disminución del volumen del espacio intravascular o hiperaldosteronismo secundario.
2. El edema propio del SN se produciría por un defecto renal intrínseco en la excreción de sodio.
3. La retención de sodio en el SN ocurriría en el túbulo colector cortical.
4. ENaC, uno de los transportadores de sodio presentes en el túbulo colector cortical, estaría implicado en la retención de sodio en el SN.
5. La barrera glomerular defectuosa propia del SN permitiría el paso de muchas proteínas, entre ellas el plasminógeno.
6. La urokinasa, enzima presente de manera natural en el epitelio del túbulo colector cortical, sería la responsable de la conversión de plasminógeno a plasmina.
7. La plasmina, formada *in situ* en el túbulo colector cortical, activaría ENaC causando, por ende, retención de sodio y formación de edema.
8. La amilorida potenciaría la diuresis producida por los diuréticos de asa en el SN.

Uso de amilorida en el tratamiento del edema nefrótico

El tratamiento del edema en el SN se basa tradicionalmente en una dieta hiposódica (2,3 g de sodio al día o 6 g de cloruro de sodio al día) y el uso de diuréticos de asa. La amilorida es un diurético ahorrador de potasio y su uso clásicamente ha sido restringido para la prevención de la hipopotasemia asociada con el uso de diuréticos de asa. Sin embargo, de acuerdo con los hallazgos descritos anteriormente, el uso de amilorida podría desempeñar un papel importante en el tratamiento del edema en el SN. En nuestra experiencia clínica, el empleo de amilorida potencia la diuresis producida por los diuréticos de asa. Esto ha sido reproducido de manera experimental⁴¹ y también ha sido comunicado en otros estudios clínicos⁴². Usualmente comenzamos el tratamiento del edema nefrótico con bumetanida a dosis de 1 mg por vía oral dos veces al día y amilorida a dosis de 5 mg por vía oral una vez al día. La amilorida no debe usarse de manera aislada sino más bien en combinación con los diuréticos de asa, puesto que aunque el papel del túbulo colector es clave en la retención de sodio en el SN, en términos absolutos éste sólo contribuye al 4% de la reabsorción del sodio filtrado total.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Deschenes G, Guignon V, Doucet A. Molecular mechanism of edema formation in nephrotic syndrome. *Arch Pediatr* 2004;11:1084-94.
2. Doucet A, Favre G, Deschenes G. Molecular mechanism of edema formation in nephrotic syndrome: therapeutic implications. *Pediatr Nephrol* 2007;22:1983-90.
3. Joles JA, Willekes-Koolschijn N, Braam B, et al. Colloid osmotic pressure in young analbuminemic rats. *Am J Physiol* 1989;257:F23-28.
4. Lecomte J, Juchmes J. So-called absence of edema in analbuminemia. *Rev Med Liege* 1978;33:766-70.
5. Koot BG, Houwen R, Pot DJ, et al. Congenital analbuminaemia: biochemical and clinical implications. A case report and literature review. *Eur J Pediatr* 2004;163:664-70.
6. Steyl C, Van Zyl-Smit R. Mechanisms of oedema formation: the minor role of hypoalbuminaemia. *S Afr Med J* 2009;99:57-9.
7. Oliver WJ. Physiologic Responses Associated with Steroid-Induced Diuresis in the Nephrotic Syndrome. *J Lab Clin Med* 1963;62:449-64.
8. Manning RD, Jr., Guyton AC. Effects of hypoproteinemia on fluid volumes and arterial pressure. *Am J Physiol* 1983;245:H284-93.
9. Koomans HA, Kortlandt W, Geers AB, et al. Lowered protein content of tissue fluid in patients with the nephrotic syndrome: observations during disease and recovery. *Nephron* 1985;40:391-5.
10. Geers AB, Koomans HA, Boer P, et al. Plasma and blood volumes in patients with the nephrotic syndrome. *Nephron* 1984;38:170-3.
11. Koomans HA, Geers AB, vd Meiracker AH, et al. Effects of plasma volume expansion on renal salt handling in patients with the nephrotic syndrome. *Am J Nephrol* 1984;4:227-34.
12. Brown EA, Markandu ND, Sagnella GA, et al. Lack of effect of captopril on the sodium retention of the nephrotic syndrome. *Nephron* 1984;37:43-8.
13. Usberti M, Gazzotti RM. Hyporeninemic hypoaldosteronism in patients with nephrotic syndrome. *Am J Nephrol* 1998;18:251-5.
14. De Seigneux S, Kim SW, Hemmingsen SC, et al. Increased expression but not targeting of ENaC in adrenalectomized rats with PAN-induced nephrotic syndrome. *Am J Physiol Renal Physiol* 2006;291:F208-17.
15. Chandra M, Hoyer JR, Lewy JE. Renal function in rats with unilateral proteinuria produced by renal perfusion with aminonucleoside. *Pediatr Res* 1981;15:340-4.

16. Ichikawa I, Rennke HG, Hoyer JR, et al. Role for intrarenal mechanisms in the impaired salt excretion of experimental nephrotic syndrome. *J Clin Invest* 1983;71:91-103.
17. Caulfield JP, Reid JJ, Farquhar MG. Alterations of the glomerular epithelium in acute aminonucleoside nephrosis. Evidence for formation of occluding junctions and epithelial cell detachment. *Lab Invest* 1976;34:43-59.
18. Fiegelson EB, Drake JW, Recant L. Experimental aminonucleoside nephrosis in rats. *J Lab Clin Med* 1957;50:437-46.
19. Ryan GB, Karnovsky MJ. An ultrastructural study of the mechanisms of proteinuria in aminonucleoside nephrosis. *Kidney Int* 1975;8:219-32.
20. Bricker NS, Stokes JM, Lubowitz H, et al. Experimentally induced permanent unilateral renal disease in dogs. *J Lab Clin Med* 1958;52:571-9.
21. Hoyer JR, Mauer SM, Michael AF. Unilateral renal disease in the rat. I. Clinical, morphologic, and glomerular mesangial functional features of the experimental model produced by renal perfusion with aminonucleoside. *J Lab Clin Med* 1975;85:756-68.
22. Besse-Eschmann V, Klisic J, Nief V, et al. Regulation of the proximal tubular sodium/proton exchanger NHE3 in rats with puromycin aminonucleoside (PAN)-induced nephrotic syndrome. *J Am Soc Nephrol* 2002;13:2199-206.
23. Biemesderfer D, DeGray B, Aronson PS. Active (9.6 s) and inactive (21 s) oligomers of NHE3 in microdomains of the renal brush border. *J Biol Chem* 2001;276:10161-7.
24. Deschenes G, Gonin S, Zolty E, et al. Increased synthesis and avp unresponsiveness of Na,K-ATPase in collecting duct from nephrotic rats. *J Am Soc Nephrol* 2001;12:2241-52.
25. Kim SW, Wang W, Nielsen J, et al. Increased expression and apical targeting of renal ENaC subunits in puromycin aminonucleoside-induced nephrotic syndrome in rats. *Am J Physiol Renal Physiol* 2004;286:F922-35.
26. Audige A, Yu ZR, Frey BM, et al. Epithelial sodium channel (ENaC) subunit mRNA and protein expression in rats with puromycin aminonucleoside-induced nephrotic syndrome. *Clin Sci (Lond)* 2003;104:389-95.
27. Loffing J, Korbmayer C. Regulated sodium transport in the renal connecting tubule (CNT) via the epithelial sodium channel (ENaC). *Pflugers Arch* 2009;458:111-35.
28. Hammer F, Stewart PM. Cortisol metabolism in hypertension. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab* 2006;20:337-53.
29. Kim SW, De Seigneux S, Sassen MC, et al. Increased apical targeting of renal ENaC subunits and decreased expression of 11beta-HSD2 in HgCl₂-induced nephrotic syndrome in rats. *Am J Physiol Renal Physiol* 2006;290:F674-87.
30. Bistrup C, Thiesson HC, Jensen BL, et al. Reduced activity of 11beta-hydroxysteroid dehydrogenase type 2 is not responsible for sodium retention in nephrotic rats. *Acta Physiol Scand* 2005;184:161-9.
31. Hamm LL, Feng Z, Hering-Smith KS. Regulation of sodium transport by ENaC in the kidney. *Curr Opin Nephrol Hypertens*; 19:98-105.
32. Kleyman TR, Carattino MD, Hughey RP. ENaC at the cutting edge: regulation of epithelial sodium channels by proteases. *J Biol Chem* 2009;284:20447-51.
33. Hughey RP, Bruns JB, Kinlough CL, et al. Epithelial sodium channels are activated by furin-dependent proteolysis. *J Biol Chem* 2004;279:18111-4.
34. Passero CJ, Hughey RP, Kleyman TR. New role for plasmin in sodium homeostasis. *Curr Opin Nephrol Hypertens*;19:13-9.
35. Kastner C, Pohl M, Sendeski M, et al. Effects of receptor-mediated endocytosis and tubular protein composition on volume retention in experimental glomerulonephritis. *Am J Physiol Renal Physiol* 2009;296:F902-11.
36. Passero CJ, Mueller GM, Rondon-Berrios H, et al. Plasmin activates epithelial Na channels by cleaving the gamma subunit. *J Biol Chem* 2008;283:36586-91.
37. Svenningsen P, Bistrup C, Friis UG, et al. Plasmin in nephrotic urine activates the epithelial sodium channel. *J Am Soc Nephrol* 2009;20:299-310.
38. Lau SO, Tkachuck JY, Hasegawa DK, et al. Plasminogen and antithrombin III deficiencies in the childhood nephrotic syndrome associated with plasminogenuria and antithrombinuria. *J Pediatr* 1980;96:390-2.
39. Vaziri ND, Gonzales EC, Shayestehfar B, et al. Plasma levels and urinary excretion of fibrinolytic and protease inhibitory proteins in nephrotic syndrome. *J Lab Clin Med* 1994;124:118-24.
40. Piedagnel R, Tiger Y, Lelongt B, et al. Urokinase (u-PA) is produced by collecting duct principal cells and is post-transcriptionally regulated by SV40 large-T, arginine vasopressin, and epidermal growth factor. *J Cell Physiol* 2006;206:394-401.
41. Deschenes G, Wittner M, Stefano A, et al. Collecting duct is a site of sodium retention in PAN nephrosis: a rationale for amiloride therapy. *J Am Soc Nephrol* 2001;12:598-601.
42. Guigonis V, Nathanson S, Doucet A, Deschenes G. Amiloride potentiates edema removal by furosemide in nephrotic children. *J Am Soc Nephrol* 2001;12: 135A.