

Rev. Chil. Pediatr. 56(5): 315-323, 1985

## Coagulación Intravascular Diseminada Inducida en la Rata: Efecto sobre la Concentración Plasmática de Fibronectina

Dr. Rodrigo Urizar E.<sup>1</sup>; Dr. Jorge Cerda<sup>2</sup>; Dr. F. Blumenstock A., Ph.D.<sup>1</sup>;  
Dr. John E. Kaplan, Ph.D.<sup>1</sup>; Dr. Robert J. Simon J., B.S.<sup>1</sup>

### The Effects of Intravenous Polyanetholsulfonate on Plasmatic Fibronectin in Rats

Induction of disseminated intravascular conglutinations (DIC) (or DIC-like reaction) by a single intravenous injection of liquoid (polyanetholsulfonate) produced significant kidney and lung microthrombosis. Within 15 min of infusion, levels of plasma fibronectin (Fn) decreased by 63 per cent (p 0.01) and remained depressed for at least 90 min. Twenty-four hours after liquoid injection concentrations of Fn rebounded reaching values 35 per cent (p 0.01) above normal. These studies suggested that in vivo, liquoid mediates coprecipitation of fibrinogen-Fn since localization of <sup>125</sup>I-fibrinogen in kidneys and lungs is increased following liquoid injection when circulating levels of Fn were low. Thrombi containing fibrinogen-fibrin-Fn and factor VIII-related antigen (VIII:Ag) were shown in renal and pulmonary microvasculature. Immunoblotting studies demonstrated significant amounts of Fn-degradation products. In vitro studies suggested that liquoid altered the electrophoretic mobility but not the detection of Fn by radial immunodiffusion. Thus, liquoid-induced DIC-like reaction aggregated sequestered Fn in microthrombi and resulted in molecular fragmentation of Fn. Since Fn has been demonstrated to be important in reticuloendothelial function, it is plausible that reduction of Fn levels and its cleavage associated with DIC may contribute significantly to the consumption coagulopathy-mediated histopathology.

(Key words: Experimental medicine. Hematology. Pathology. Disseminated intravascular coagulation with low plasma fibronectin and kidney and lung microthrombosis).

La Fibronectina (Fn) es una glicoproteína que participa activamente en la mantención de los sistemas de defensa del organismo, en la organización y crecimiento tisular y en la permeabilidad vascular<sup>1-9</sup>. Se ha comprobado clínicamente, que

los procesos de coagulación intravascular diseminada (CID), disminuyen considerablemente la concentración plasmática de Fn<sup>7-8-10</sup>. Una explicación plausible del fenómeno, podría ser la incorporación de Fn en la coagulación intravascular. En trabajos publicados anteriormente<sup>11-12</sup>, hemos demostrado que la inyección de una sustancia polianiónica, como el polianetolsulfonato (liquoid) en la rata, produce defibrinación aguda masiva, con microtrombosis generalizada.

El objetivo de los experimentos que se mues-

1. Departamento de Salud de Albany, Estado de Nueva York. Departamentos de Pediatría y Fisiología. Escuela de Medicina de Albany, N.Y. EE.UU.
2. Departamento de Fisiología y Medicina Interna, Universidad de la República, Montevideo, Uruguay.

tran enseguida, es determinar si, la infusión de liquoid en la rata, modifica los niveles sanguíneos y la composición o la estructura química de la Fn y si los microtrombos generalizados inducidos por el liquoid —constituidos principalmente por fibrinógenos y fibrina— contienen también cantidades apreciables de Fn.

## MATERIAL Y METODO

En los experimentos se usaron 37 ratas Wisar (machos), de 240 a 250 g. Después de anestesia con pentobarbital sódico se extrajeron 200  $\mu$ l de sangre (muestra 1, n = 19) para determinar los valores normales de Fn plasmática. A continuación, se inyectaron por vía endovenosa, con 0.25 ml de una solución de liquoid al 5% (12.5 mg), mezclada con 0.25 ml de solución de NaCl al 0.9%. Seis ratas recibieron solamente 0.5 ml de la solución salina y sirvieron como control. Se extrajeron muestras de 200  $\mu$ l de sangre 15, 30, 90 y 180 min. después de la inyección de liquoid (muestras 2, 3, 4, y 5; n = 15, 12, 12, y 9 respectivamente), con el objeto de comparar sus concentraciones de Fn con los valores normales. Las ratas que sobrevivieron a este procedimiento y los controles fueron anestesiados de nuevo, sometidos a extracción sanguínea total (muestra 6, n = 4) y sacrificados. Se obtuvieron secciones de riñones y pulmones para microscopía de luz (ML), inmunofluorescencia (MIF) y electrónica (ME). De otras doce ratas se tomaron 100  $\mu$ l de sangre y se inyectaron con 0.2 ml de una solución diluida 1:10 conteniendo 1.5 mg. de fibrinógeno marcado con  $I^{125}$ <sup>13</sup>, que proporcionó 260.000 unidades de radioactividad por rata. Después de 20 minutos de equilibrio de la solución de fibrinógeno inyectada, 6 ratas recibieron 0.5 ml. de solución salina (0.9%) y otras 6 se inyectaron con liquoid en la dosis indicada anteriormente. Después de 15, 30, 45 y 60 min. de la inyección de solución salina o de liquoid, se extrajeron 100  $\mu$ l de sangre para medir la radioactividad en forma seriada. Después de obtener la muestra de los 60 min. las ratas anestesiadas fueron sacrificadas, sus riñones y pulmones extraídos, secados y pesados en total; una sección de cada uno fue pesada por separado. La radioactividad tisular y sanguínea se midió con un contador gama.

La concentración plasmática de Fn se midió usando inmunoelectroforesis con anticuerpo monoespecífico<sup>14</sup> comparándola con la concentración de una solución estándar de Fn purificada y expresada un  $\mu$ g/ml<sup>15</sup>. Las características bioquímicas de la Fn fueron evaluadas mediante técnicas de inmunodifusión doble de Mancini, comparando la especificidad o reactividad del

suero de cabra anti-fibrinógeno de rata y el suero de conejo anti-Fn de rata. La electroforesis en gel de poliacrilamida, el immunoemborronado y la transferencia de las bandas proteicas a láminas de nitrocelulosa se realizaron usando células "Trans-Blot®"<sup>16</sup>. Las láminas de nitrocelulosa fueron tratadas con anticuerpo anti-Fn. Este anticuerpo unido a la Fn contenida en la lámina se puso en evidencia con suero marcado con peroxidasa anti IgG de conejo. La lámina de nitrocelulosa conteniendo las bandas proteicas con anticuerpo (con peroxidasa) fueron tratadas con reactivos para poner en evidencia la peroxidasa.

Para los estudios histológicos con microscopía de luz (ML) 19 muestras de riñón y pulmón fueron fijadas, procesadas en forma rutinaria y teñidas con el reactivo de Schiff (PAS) y metenamina argéntica (Jones). Para los estudios con microscopía electrónica (ME) se fijaron 8 muestras durante 2 horas en glutaraldehído, siguiendo procedimientos publicados anteriormente<sup>11-12</sup>. Para la microscopía de inmunofluorescencia (MIF) las muestras de riñón y pulmón de 16 ratas fueron congeladas en nitrógeno líquido y mantenidas a  $-17^{\circ}\text{C}$ <sup>11-12</sup>. Las secciones fueron tratadas con suero fluorescinado de conejo anti-IgG, IgM, IgA, C<sub>3</sub> y fibrinógeno-fibrina de rata. Usando MIF indirecta se incubaron las secciones con suero de conejo anti-Fn y factor VIII antígeno de rata y con suero fluorescinado de cabra anti-IgG de conejo. La monoespecificidad de los antisueros se documentó usando inmunoelectroforesis.

## RESULTADOS

*En Plasmática* (Figura 1): 15 min. después de la inyección de liquoid se observó una reducción de la concentración de Fn a un 30 a 33% del valor previo (p 0.0); esta depresión se mantuvo por 3 hrs. y a las 24 hrs. los niveles detectados estaban por encima de lo normal (35 a 40% sobre el promedio, p 0.01).

*Fibrinógeno  $I^{125}$*  (Tabla 1): La radioactividad de los grupos individuales se mantuvo sin modificaciones importantes a través de los 60 min. de medición. Sin embargo, la diferencia entre el grupo inyectado con solución salina y el que recibió liquoid, fue estadísticamente significativa (p 0.01). Los valores de radioactividad medidos en riñón y pulmón de las ratas inyectados con liquoid comparados con controles también fueron altamente significativos (p 0.01). La radioactividad pulmonar fue mucho mayor que la renal.

El análisis de la Fn con la técnica de immunoemborronado y transferencia (Figura 2) demostró prácticamente desaparición de la banda co-

respondiente a Fn; esta banda reapareció 24 hrs. más tarde. Estos hallazgos se correlacionaron en forma muy positiva con los cambios de concentración de la Fn Plasmática.

**Histopatología:** En la ML se observaron depósitos masivos de material eosinofílico-fibrinoides en riñón y pulmón. (Figuras 3 y 4). Los glomérulos aparecían edematosos, hipertróficos con necrosis focal y segmentaria. Los capilares y las arteriolas contenían trombos y el mesangio se veía hipertrófico con expansión de la matriz. Los leucocitos polimorfonucleares (PMN) abundaban, pero no se observó proliferación de las células glomerulares. La gran mayoría de los capilares pulmonares contenían trombos, con gran cantidad de PMN, células macrofágicas y había edema intersticial. La histología de controles fue normal.

La ME (Figura 3) mostró que los trombos renales y pulmonares estaban compuestos de material granular y fibrilar denso. Las fibrillas no demostraron las estrias periódicas características de fibrina. Habían plaquetas normales y degranu-

ladas y también PMN en abundantes cantidades. El endotelio estaba considerablemente edematoso y desprendido de las membranas basales cuya ultraestructura era normal. el epitelio glomerular y los pedicelios tenían también edema pero no estaban fusionados. Se observó necrosis y desintegración en los capilares pulmonares. En los animales no inyectados los tejidos eran normales o tenían cambios mínimos.

En la MIF (Figuras 4 y 5) los trombos descritos contenían gran cantidad de fibrinógeno-fibrina, factor VIII (17) y en especial FN (18-20). El examen con mayor aumento mostró que estaban constituidos por un material granular fino y que la intensidad de la fluorescencia se acentuaba en la periferia de los trombos. Los animales usados de control presentaron depósitos espontáneos de IgM y pequeñas cantidades de factor VIII<sup>17</sup>. Se observó Fn, en cantidades mayores que el Factor VIII, predominantemente en el mesangio y a lo largo de las membranas basales de glomérulos, túbulos, capilares y arteriolas renales y pulmonares y tabiques alveolares<sup>18-22</sup>.

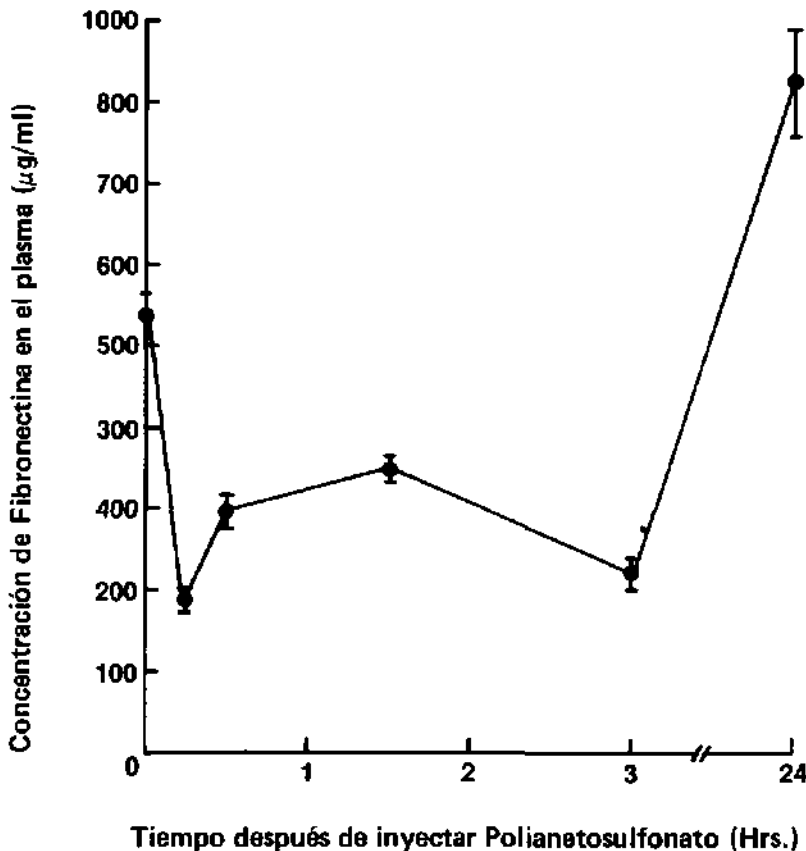


Figura 1. Detalla los cambios en la concentración plasmática de la Fn (en  $\mu\text{g}/\text{mL} \pm \text{DS}$ ) después de la inyección de líquido. (0 = antes de la inyección de líquido representan promedios  $\pm \text{DS}$ ). Todos los valores entre 0 y 24 hrs. son significativamente diferentes del promedio ( $p < 0.01$ ).

Tabla 1.

Radioactividad en sangre, riñón de ratas inyectadas con Fibrinógeno I<sup>125</sup> y luego tratadas con liquoid (polianetolsulfonato)

GRUPO	Radioactividad Sanguínea			Radioactividad Organos		
	* (Porcentaje de la dosis inyectada + ES)					
	15 min.	30 min.	45 min.	60 min.	Riñones	Pulmones
Fibrinógeno-I <sup>125</sup> + Salino (n = 6)	4.3% ± 0.24	4.2% ± 0.17	4.1% ± 0.17	3.9% ± 0.21	1.6% ± 0.05	0.78% ± 0.06
Fibrinógeno-I <sup>125</sup> + Liquoid (n = 6)	2.7% ± 0.30	2.4% ± 0.23	2.3% ± 0.23	2.2% ± 0.25	2.25% ± 0.11	14.25% ± 1.27

\* Dosis inyectada por rata: 260.000 unidades  
p 0.01 Fibrinógeno-<sup>125</sup> + salino versus Fibrinógeno-I<sup>125</sup> + Liquoid.

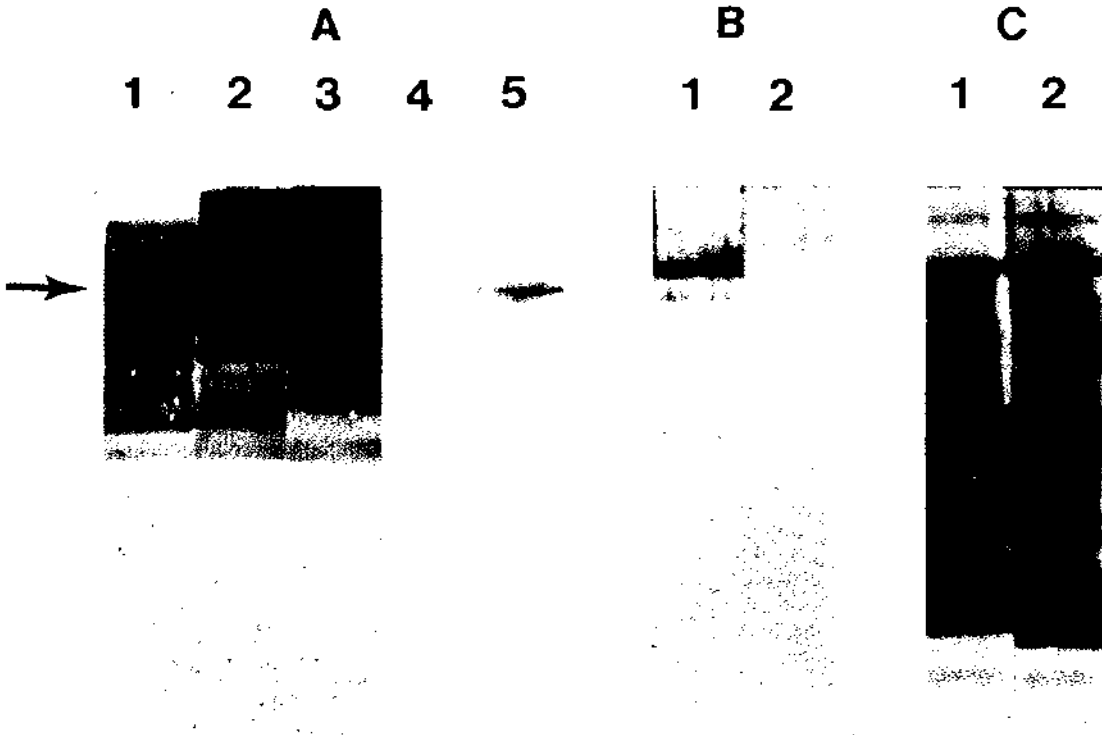
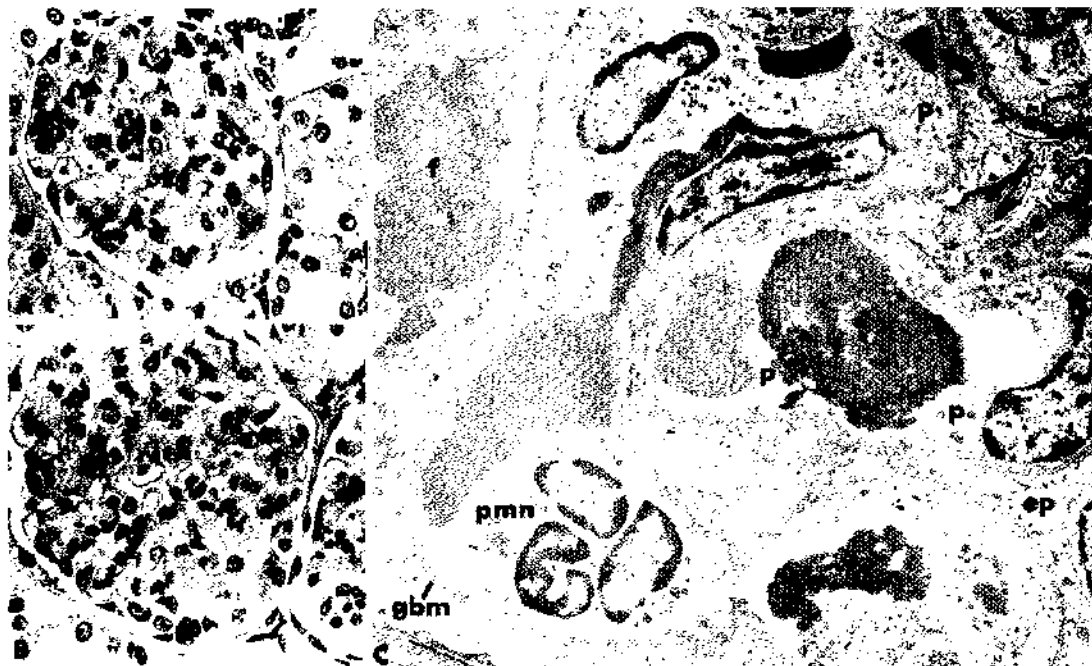
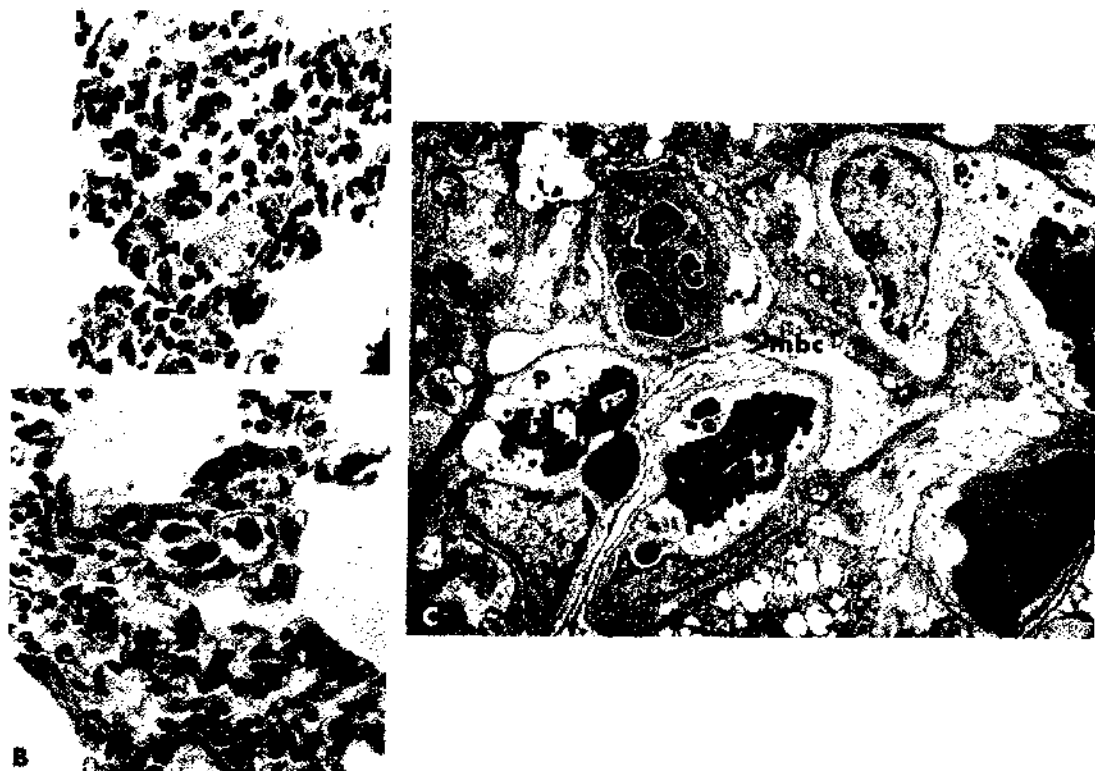


Figura 2. Muestra los efectos del liquoid en la motilidad electroforética de la Fx. A) Plasma emborronado teñido con anticuerpo anti Fx de rata. La flecha indica la localización de la banda de Fx. Zona 1 = plasma de control; zona 2 plasma 15 min. después de liquoid; zona 3, plasma normal incubado (in vitro) con 0.8 mg liquoid/ml; zona 4, plasma de control; zona 5, plasma a las 24 hrs. después de la inyección de liquoid. B) Gradientes (gel de poliacrilamida) de Fx purificada y teñida con azul de Coumassie. Zona 4, Fx de rata (20 µg); zona 2, Fx de rata más liquoid (5 µg). C) Gradientes (gel de poliacrilamida) de plasma teñido con azul de Coumassie. Zona 1, plasma de control; zona 2, plasma 15 min. después de la inyección de liquoid.



**Figura 3.** Microfotografías que muestran las lesiones renales observadas en ratas Wistars inyectadas con liquoid. A) Se observan 2 glomérulos, uno de ellos está hipertrófico y ambos contienen trombos eosinofílicos abundantes con numerosos leucocitos PMN. Hematox. eos. 400X. B) Los capilares glomerulares están ocluidos por trombos de material electrónico denso (f) y por plaquetas (p). Las membranas basales (GBM) y pedicelos (ep) aparecen intactos; acetato de uranilo y citrato plúmbico. 5200K.



**Figura 4.** Histopatología y ultraestructura pulmonar de ratas Wistar inyectadas con liquoid. A) y B) Microtrombos que ocluyen los capilares pulmonares y PMN. Alvéolos aparecen relativamente libres de material proteico. Hematox. eos. 400 K. C) Lesiones similares a las mostradas en A y B, se observan en esta microfotografía. Trombos (f) fibrilares, leucocitos (PMN) y plaquetas (p). El endotelio aparece edematizado y la membrana basal capilar (MBC) presenta estructural normal. Acetato de uranilo y citrato plúmbico, 2000K.

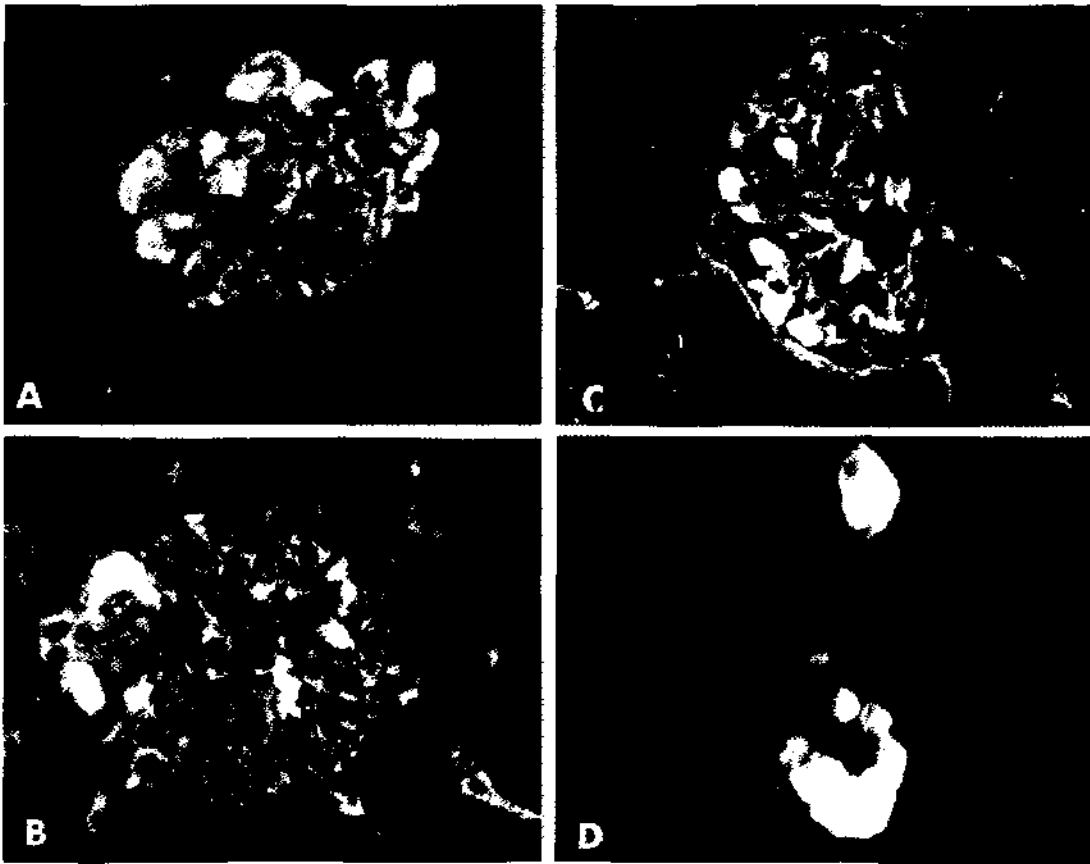


Figura 5. Inmunopatología renal en ratas Wistar inyectadas con Liquoid. A) y B) muestran depósitos de antígeno del Factor VIII, en trombos, mesangio y membrana basal glomerular. Suero de conejo anti Factor VIII (antígeno) de rata y anticuerpo anti IgG de conejo 400 X. C) Depósitos de antígeno de Fibronectina (Fn) en membranas basales, cápsula de Bowman y membranas tubulares. El mesangio y los microtrombos muestran acumulación de antígeno. D) Trombos intracapilares vistos a mayor aumento. Suero de conejo anti Fn de rata y suero fluorescinado anti IgG de conejo. 350 X y 1200 X respectivamente.

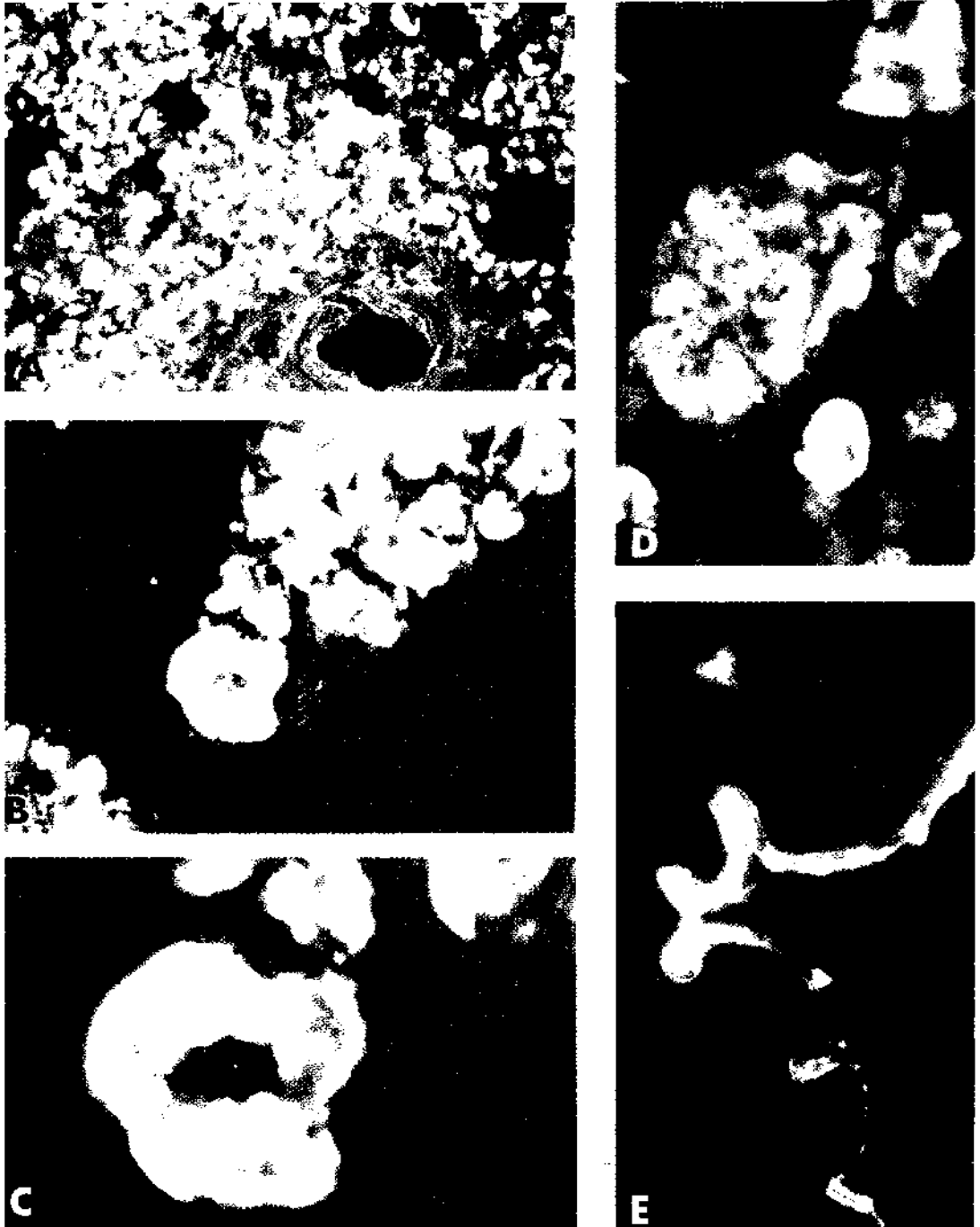
## DISCUSION

La inyección endovenosa de liquoid produjo en la rata una marcada reducción de la concentración plasmática de Fn, que se mantuvo por varias horas y fue seguida de una elevación sobre lo normal cuando se midió a las 24 horas. Los experimentos paralelos utilizando fibrinógeno marcado demostraron que la radioactividad sanguínea fue menor en ratas inyectadas con liquoid. Al mismo tiempo que el conteo radioactivo en la sangre disminuyó, la radioactividad en riñón y pulmón aumentó considerablemente alcanzando en este último niveles mucho mayores que los del riñón.

Los estudios inmunohistopatológicos y ultraestructurales revelaron lesiones enteramente superponibles a las características de la reacción de Schwartzman-Sanarelli<sup>23-25</sup>. Se observaron depó-

sitos masivos de material eosinofílico que contenía gran cantidad de fibrinógeno-fibrina, Factor VIII y en especial Fn. Estos resultados correlacionan en forma adecuada la disminución de la concentración de la Fn plasmática y la formación de los trombos intracapilares renales y pulmonares. Se concluye por lo tanto, que la activación de la coagulación intravascular resulta en la disminución de la concentración de fibrinógeno y Fn plasmáticos, debido a la precipitación del fibrinógeno y al atrapamiento de la Fn durante el proceso de formación de los microtrombos.

La acción del liquoid sobre la Fn no está completamente aclarada. Sin embargo, se estableció que el liquoid no interfirió con el reconocimiento de la Fn por su anticuerpo específico o por las tinciones proteicas. Las técnicas de inmunoprecipitación y la electroforesis en gel de poliacrilamida demostraron que aparentemente el



**Figura 6.** Inmunofluorescencia pulmonar en ratas Wistar inyectadas con liquoid. A - D) Muestran la abundancia de microtrombos en los capilares pulmonares; los espacios alveolares aparecen vacíos. En D se aprecia la estructura granular de los trombos con acentuación periférica de la fluorescencia. E) Se observa la fluorescencia positiva para Fn en una arteriola de rata normal. La Fn forma nódulos en la capa endotelial, la lámina elástica interna no está teñida mientras que por debajo la tinción aparece uniforme y continua. A - B) Anticuerpo de conejo anti Fn de rata y anticuerpo de cabra anti IgG de conejo; 350, 500, 120X (C y D) respectivamente.

polianión (liquoid) se une a la Fn y altera su motilidad electroforética. No se ha detectado fragmentación de la molécula de Fn y creación de productos de su degradación en estudios "in vivo". Estudios "in vitro", aún no comunicados, demuestran en forma preliminar, utilizando Fn purificada en lugar de muestras de plasma, que no se detectan productos de la degradación de Fn.

Los valores supranormales de Fn encontrados a las 24 hrs. podrían indicar disociación de las moléculas de Fn secuestradas por el liquoid. Alternativamente es posible que una retroalimentación negativa determine sobreproducción de Fn. Una situación similar se ha demostrado con la depleción rápida de fibrinógeno, plaquetas, proteínas de la coagulación y del complemento. Los traumas accidentales o quirúrgicos, la decomplementación (con veneno de cobra) y el bloqueo del sistema retículoendotelial pueden producir un aumento de la síntesis de las substancias mencionadas<sup>26</sup> resultando en valores supernormales.

Resumiendo, parece ser que el polianetolsulfonato reduce los niveles plasmáticos de Fn debido a su coparticipación, con el fibrinógeno, en la generación de microtrombosis generalizada con compromisos fundamentalmente del riñón y pulmón. Al mismo tiempo se detectaron cantidades apreciables de antígeno relacionado con el Factor VIII de la coagulación, formando parte de los microtrombos. La ultraestructura de éstos reveló material granular-fibrilar sin las estriaciones periódicas características de fibrina polimerizada y estabilizada.

Se postula que podría considerarse a la Fn un factor importante en la generación de microtrombosis generalizada. Es posible que la patología local o sistémica de los procesos de CID se deba en parte a la depleción de FN que modula la fagocitosis, inflamación y permeabilidad vascular. Nuevas investigaciones acerca del rol de la Fn en la producción y mantención de las glomerulonefritis desencadenadas por mecanismos inmunológicos y no inmunológicos podrían tener trascendencia en el manejo clínico de estos pacientes.

## RESUMEN

La inducción de coagulación intravascular diseminada (CID) o una reacción semejante a la CID por una sola inyección de una substancia polianiónica: polianetol sulfonato (Liquoid) produjo microtrombosis renal y pulmonar. Las concentraciones plasmáticas de fibronectina (Fn) disminuyeron en 63% (P 0.01) en los primeros 15 min. que siguieron a la inyección y se mantuvieron

disminuídos por lo menos 90 min., sugiriendo que, *in vivo*, el polianión interviene en la coprecipitación del Fibrógeno-Fibronectina ya que cuando las concentraciones circulantes de Fn son bajas aumentan la localización de Fibrinógeno<sup>125</sup> en los riñones y pulmones después de inyectar liquoid. En la microvasculatura renal y pulmonar se encontraron trombos que contenían fibrinógeno, fibrina, Fn., y antígeno relacionado con el factor VIII (VIII Ag). Los estudios de inmuno emborrnamiento mostraron cantidades significativas de productos de degradación de la Fn. Los estudios "in vitro" sugieren que el liquoid altera la movilidad electroforética pero no la detección de la Fn por inmunodifusión. De esta manera la reacción semejante a CID inducida por el polianión agrega y secuestra Fn en los microtrombos y resulta en fragmentación molecular de ésta. Como la Fn es importante para la función retículoendotelial es razonable suponer que la reducción de su concentración y su degradación asociada con la CID puedan contribuir significativamente a las alteraciones histopatológicas mediadas por la coagulopatía de consumo.

## REFERENCIAS

1. Courtoy P.J., Kanwar Y.S., Hynes O., Farquhar M.G.: Fibronectin localization in the rat glomerulus. *J. Cell Biol.* 87: 691, 1980.
2. Ehrlich M.I., Krushell J.S., Blumenstock F.A., Kaplan J.E.: Depression of phagocytosis by plasmin degradation products of plasma fibronectin. *I Lab. Clin. Med.* 98: 263, 1981.
3. Hynes R.O., Ali J.U., Destree A.J., Mautner V., Perkins M.E., Senger D.R., Wagner D.D., Smith K.K.: A large glycoproteins lost from the surfaces of transformed cells. *Ann NY Aca Sci.* 312: 317, 1978.
4. Mosher D.F.: Fibronectin. *Prog. Hemostasis and Thrombosis* 5: 111, 1980.
5. Mossesson M.W., Unfleter R.A.: The cold-insoluble globulin of the human plasma. I Purification, primary characterization, and relationship to fibrinogen and other cold-insoluble fraction components. *J. Biol. Chem.* 245: 5728, 1970.
6. Mossesson M.W., Amrani D.L.: The structure and biologic activities of plasma fibronectin. *Blood* 56: 145, 1980.
7. Ruoslahti E., Engvall E., Hayman E.G.: Fibronectin: Current contents of its structure and function. *Coll Rev. Res.* 1: 95, 1981.
8. Saba T.M., Blumenstock F.A., Weber F., Kaplan J.E.: Physiologic role of cold-insoluble globulin in system host defense: Implication of its characterization as the opsonic  $\alpha_2$ -surface binding glycoprotein. *Ann NY Acad Sci.* 312: 43, 1978.
9. Saba T.M., Jaffe E.: Plasma fibronectin (opsonic glycoprotein): Its synthesis by vascular endothelial cells and role in cardiopulmonary integrity after trauma as related to reticuloendothelial function. *Am. J. Med.* 68: 577, 1980.



10. *Sherman L.A., Lee J.*: Fibronectin: Blood turnover in normal animals and during intravascular coagulation. *Blood* 60: 558, 1982.
11. *Urizar R.E., Sherer G., Tartaglia A., Pickering R.J., Dodds W.J.*: Disseminated intravascular coagulation in the rat. I. Correlation of hematologic and complement abnormalities with renal lesions studies by light, fluorescence and electron microscopy. *Lab. Invest.* 32: 270, 1975.
12. *Urizar R.E., Sherres G., Tartaglia A., Pickering R.J., Dodds W.J.*: Disseminated intravascular coagulation induced by liquor in the rat. II. Effect of heparin on hematologic and complement abnormalities and renal lesions studies by light, fluorescence and electron microscopy. *Lab. Invest.* 34: 510, 1976.
13. *Kaplan J.E., Snedeker P.W.*: Maintenance of fibrin solubility by plasma fibronectin. *J. Lab. Clin. Med.* 96: 1054, 1980.
14. *Blumenstock F.A., Weber P., Saba T.M., Laffin R.*: Electroimmunoassay of Alpha-2-Opsonic protein during reticuloendothelial blockade. *A. J. Physiol.* 232: R80, 1977.
15. *Blumenstock F.A., Saba T.M., Weber P.*: An affinity method for the rapid purification of opsonic  $\alpha_2$ AB glycoprotein from serum. *Adv. Shock Res.* 2: 55, 1979.
16. *Laemmly U.K.*: Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature* 227: 680, 1975.
17. *Hoyer J.R., Michael A.F., Hoyer L.W.*: Immunofluorescent localization of anti-hemophilic factor antigen and fibrinogen in human renal disease. *J. Clin. Invest.* 53: 1375, 1974.
18. *Linder E., Miettinen A., Tornroth T.*: Fibronectin as a marker for the glomerular mesangium in immunohistology of kidney biopsies. *Lab. Invest.* 42: 70, 1980.
19. *Oh E., Pierschbacher M., Ruoslahti E.*: Deposition of plasma fibronectin in tissues. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 78: 3218, 1981.
20. *Peterson E.E., Colvin R.B.*: Cold-insoluble globulin (Fibronectin, LETS protein) in normal and diseased human glomeruli: Papain-sensitive attachment to normal glomeruli and deposition in crescents. *Clin. Immunol Immunopathol* 11: 425, 1978.
21. *Sheinman J.I., Fish A.J., Michael A.F.*: The Immunohistopathology of glomerular lesions: The glomerular basement membrane, actomyosin and fibroblast surface antigens in normal, diseased, and transplanted human kidneys. *Am. J. Pathol.* 90: 71, 1978.
22. *Stenman S., Vaheri A.*: Distribution of a major connective tissue protein fibronectin in normal human tissues. *J. Exp. Med.* 147: 1054, 1978.
23. *Evensen S.A., Jeremic M., Hjort P.F.*: Intravascular coagulation with generalized Shwartzman reaction induced by a heparin-like anticoagulant (liquoid). *Thromb Diath Haemorrh* 18: 24, 1967.
24. *Gronwall J.A., Brunson J.G.*: The generalized Shwartzman phenomenon in rats. *Arch. Pathol.* 62: 324, 1956.
25. *Muller-Berghaus G.*: Pathophysiology of disseminated intravascular coagulation. *Thromb Diath Haemorrh.* 36: 45, 1969.
26. *Dodds W.J., Pickering R.J.L.*: The effect of cobra venom factor on hemostasis in guinea pigs. *Blood* 40: 400, 1972.