

EFFECTOS DE MINERALOCORTICOIDES SOBRE LOS SISTEMAS CALICREINA-QUININA Y PROSTAGLANDINAS DEL RIÑÓN DE RATA.

José A. Colina-Chourio*, Alberto Nasjletti** y John C. McGiff**

RESUMEN

En ratas machos colocadas en cajas metabólicas y con dieta normal se estudió la posibilidad de que los mineralocorticoides aumenten la excreción urinaria de Prostaglandinas a través del aumento de la actividad intrarrenal del Sistema Calicreína-quinina. Se estudiaron los efectos de Deoxycorticosterona (DOCA, 5 mg) y Aldosterona (0.25 mg) en solución de aceite de maní (0.2 ml) durante 14 días. El tratamiento produjo aumento en la excreción urinaria de Calicreínas de 17.46 ± 4.27 a 65.57 ± 8.65 $\mu\text{g}/\text{día}$ ($P < 0.02$), aumento en la excreción urinaria de Prostaglandinas E_2 de 36.9 ± 9.7 a 103.6 ± 18.2 ng/día ($P < 0.02$), aumento del flujo de orina diario al triple ($P < 0.02$) y redujo la concentración plasmática de Renina de 20.5 ± 2.6 a 5.0 ± 1.2 ng/ml/h ($P < 0.005$). No hubo cambios significativos en la excreción de sodio, aunque se observó el fenómeno del "escape", ni tampoco fué afectada la presión arterial sistólica. El tratamiento con el solvente (Control) no afectó ninguno de los parámetros medidos. El efecto producido por DOCA

* Cátedra de Fisiología, Facultad de Medicina, Universidad del Zulia, Maracaibo, Venezuela.

** Departamento de Farmacología, Universidad de Tennessee, Memphis, Tennessee, U.S.A.

Este trabajo se hizo acreedor al Premio "Asamblea Legislativa del Estado Zulia para Investigaciones Médico-Científicas". Año 1978.

fué bloqueado por el tratamiento con 100.000 KIE/día de Aprotinin, un inhibidor de las Calicreínas. Los resultados sugieren que las interacciones de hormonas mineralocorticoides, quininas y prostaglandinas renales pueden ser importantes en el mantenimiento de la homeostasis del sodio y agua.

INTRODUCCION

En los procesos de mantenimiento de la presión arterial, metabolismo hidro-salino y desarrollo de hipertensión arterial experimental han sido implicados 3 sistemas hormonales: mineralocorticoides (8, 42), Calicreínas y quininas (1, 13, 24, 26) y Prostaglandinas (6, 21, 28, 32-34). Si la actividad intrarrenal del Sistema Calicreína-quinina modula la liberación renal de PGE (7, 30) puede esperarse que los mineralocorticoides que aumentan la excreción urinaria de Calicreínas (1, 5, 13, 24) podrían también aumentar la liberación de PGs renales, de manera que pudiesen haber interacciones entre los diferentes sistemas hormonales renales y adrenal que controlan la presión arterial y metabolismo hidromineral.

Esta posibilidad se estudió en el presente trabajo en la rata macho adulta, estudiando los efectos de Deoxycorticosterona (DOCA) —el mineralocorticoide más importante en la rata(3)— y Aldosterona sobre las excreciones urinarias de Calicreínas y Prostaglandinas E₂ (PGE₂), contenido ó actividad renal de calicreínas, excreción de sodio, flujo urinario y concentración plasmática de renina antes y después del tratamiento con Aprotinin (Trasylol Bayer), un inhibidor de las Calicreínas y otras proteasas (10, 47).

MATERIAL Y METODOS

Los estudios se efectuaron en ratas machos Sprague-Dawley con peso de 300-350 g. A su llegada al laboratorio fueron colocadas en cajas metabólicas (Whatman Manufacturing Co, Timonium, Maryland, USA) que permiten recoger muestras de orina de 24 horas; fueron alimentadas con dieta normal comercial para ratas (Purina) que contiene 152 mEq de sodio por kilogramo, y se les permitió tomar agua a voluntad. Se les permitió una semana de adaptación a la caja metabólica antes de realizar cualquier maniobra experimental. Luego se separaron en grupos y se realizaron 3 series experimentales.

Serie A. Diecisiete ratas fueron divididas en 3 grupos: Grupo 1, que recibió Acetato de Deoxicorticosterona (DOCA, Sigma Chemical Company, St. Louis, Missouri, USA) a dosis de 5 mg/rata/día (6 ratas). A este grupo

se le tomó una muestra de sangre por punción cardíaca, sin anestesia, antes y después del tratamiento, se centrifugó a 2°C y se separó el plasma para medir concentración plasmática de Renina (9, 35). Grupo 2, que recibió Acetato de d-Aldosterona (Sigma Chemical Co.) a dosis de 0.25 mg/rata/día (6 ratas). Ambas drogas fueron disueltas en aceite de maní e inyectadas por vía SC en una sola inyección diaria en volumen de 0.2 ml. Grupo 3, que fue el control, recibió sólo el solvente (aceite de maní), 0.2 ml SC (5 ratas). El tratamiento simultáneo para los 3 grupos duró 14 días (tabla I).

Serie B. Después de un período control de 5 días, 5 ratas fueron tratadas con 100.000 KIE/día de Aprotinin (Trasyol, Farbenfabriken Bayer AG, República Federal Alemana), un inhibidor de las calicreínas (10, 47), el tratamiento duró 4 días (Fig. 1). En este grupo se midió la excreción urinaria de Prostaglandinas E₂ (PGE₂).

Serie C. Seis ratas fueron tratadas con DOCA a dosis igual al grupo descrito anteriormente, durante 14 días. Al 10º día del tratamiento con DOCA se empezó tratamiento simultáneo con Aprotinin (Trasyol) por 4 días a dosis y vía igual a la serie B (Fig. 2). Este grupo ingirió una cantidad fija de sodio diariamente, igual a la excreción urinaria diaria.

En todos los experimentos se recogieron muestras de orina de 24 horas, y una vez medido el volumen se guardaron en congelación a -5°C hasta su procesamiento. Al final de los experimentos se sacrificaron las ratas por guillotina y se tomaron inmediatamente los riñones izquierdos, se pesaron y de inmediato se congelaron en mezcla acetona-hielo seco, y se guardaron en congelador (-5°C) hasta su procesamiento.

En el transcurso de los experimentos se midieron: Flujo urinario, en ml/día. Peso corporal en gramos (diariamente). Presión arterial sistólica diariamente, expresada en mm Hg. Se midió aproximadamente a la misma hora (9:00 a.m.) por la misma persona y en el mismo sitio especialmente adaptado para ello. Se utilizó el método indirecto por esfigmografía en la cola, de Friedman y Fredd (11) con algunas modificaciones, utilizando un transductor de presión adaptado al respecto (NARCO Biosystems, Texas, USA) y registrado el trazado en un polígrafo (Hewlett-Packard, modelo 7720).

Concentración plasmática de Renina. Se obtuvo el plasma por centrifugación de la sangre a 2°C (Grupo 1, Serie A) de acuerdo al método de Nasjletti y Masson (35), incubando el plasma con exceso de sustrato homólogo en presencia de inhibidores de angiotensinasas, y luego se midió la Angiotensina II generada por un bioensayo de respuesta presora de la

rata anestesiada de acuerdo al método de Skeggs y cols (43), con algunas modificaciones. La rata fué anestesiada con Amobarbital, atropinizada y tratada con un bloqueador ganglionar y con ambos riñones intactos; la presión arterial se midió directamente en la carótida y registrada en un polígrafo (Hewlett-Packard, modelo 7720) a través de un transductor de presión arterial (Stathan P23 Db). Las inyecciones de muestras y standards se hicieron a través de una vena femoral. El contenido de Angiotensina II de las muestras se determinó comparando su respuesta presora con la producida por dos standards (uno mayor y otro menor que la muestra) de Angiotensina Standard sintética (Hypertensin, CIBA Pharmaceutical Co, Summit, NJ, USA) y luego se calculó la concentración de la muestra a partir de escala semilogarítmica. Los resultados finales fueron expresados como nanogramos de Angiotensina II por mililitro de plasma y por hora de incubación (ng/ml/h).

Contenido renal de Caliceínas: de acuerdo al método de Carretero y cols (4), que básicamente consiste en incubar extracto renal obtenido por homogeneización en 0.5% de ácido deoxicólico (1 g de tejido/5 ml de solución) a temperatura del hielo, con solución de quinínógeno de plasma de perro tipo 2 (17) obtenido por método ya descrito (7). Se tomó 1 ml de sustrato + 0.05 ml de extracto renal (23). El quinínógeno fué disuelto en solución buffer pH 8.5 compuesta de: 1 ml de 3×10^{-2} M EDTA- Na_2 + 3 ml de 10^{-2} M de 1-10 Phenantrolina + 1 ml de 1.5 M NaCl. La incubación se hizo a 37°C por 10 minutos, se acidificó con 0.03 N HCl hasta pH 5-5.5. La reacción se frenó por calentamiento, se enfrió y el sobrenadante se tomó para bioensayo de las quininas generadas. El bioensayo se realizó midiendo la respuesta vasodilatadora (aumento del flujo sanguíneo femoral) de las muestras comparadas con bradykinina standard sintética (Bradykinin, Sandoz Pharmaceutical Co, Basilea, Suiza) (37). Luego se calculó la concentración de quininas en la muestra con una escala semilogarítmica y el resultado final se expresó como nanogramos de quinina por cada gramo de tejido renal y por minuto de incubación (ng/g/min) (Fig. 3).

Excreción urinaria de sodio. Se midió la concentración urinaria en mEq/L por fotometría de llama (Flame photometer, G-K Turner Associates, Palo Alto, California, USA) y se calculó la excreción multiplicando la concentración obtenida por el volumen diario de orina y dividiendo por 1000, y se expresó como excreción diaria, en mEq/día.

Excreción urinaria de Caliceínas. Se midió la concentración urinaria por el método de Marin-Grez y Carretero (25), el cual es basado en incubar 5 μ l de orina con exceso de quinínógeno de perro tipo 2 (7, 17) en presencia de inhibidores de quininasas, y luego se midieron las quininas generadas

por un bioensayo ya descrito (27); se calculó la excreción multiplicando la concentración de quininas por el flujo de orina diario y se expresaron como microgramos de Bradiquinina por día ($\mu\text{g}/\text{día}$).

Excreción urinaria de Prostaglandinas E_2 (PGE_2). Se practicó extracción para ácidos grasos (27), purificación por cromatografía de capa fina (14) en láminas de sílica gel, y bioensayo (7, 45) utilizando los tejidos de estómago de rata, colon de rata y recto de pollo conectados a transductores de desplazamiento muscular (Hewlett-Packard) y los trazados fueron recogidos en un polígrafo (Hewlett-Packard, modelo 7720). La excreción diaria se calculó multiplicando la concentración de PGE_2 en las muestras de orina por el flujo de orina diario, y se expresó como nanogramos de PGE_2 excretada por día ($\text{ng}/\text{día}$).

Todos los resultados se expresaron como media \pm error standard de la media y fueron analizados para significación estadística por el test de "t" de Student para muestras pareadas o no pareadas cuando fué apropiado. Un valor de P de 0.05 ó menos fué considerado como estadísticamente significativo.

RESULTADOS

Efectos de la administración de Deoxicorticosterona (DOCA) y Aldosterona.

En la tabla I se observan los valores controles (tratamiento con aceite de maní) obtenidos en 5 ratas. Estos valores fueron constantes en cada grupo, puesto que todos los parametros fueron medidos antes y después del tratamiento. Los valores controles de la concentración plasmática de Renina para el grupo tratado con DOCA fueron de $20.5 \pm 2.6 \text{ ng/ml/h}$ (Fig. 3). El tratamiento prolongado de 14 días con el solvente de las drogas no produjo cambios significativos en ninguno de los parametros estudiados.

Después de 14 días de tratamiento con DOCA y Aldosterona, la excreción de sodio y la presión arterial no fueron afectados significativamente, en cambio se observaron modificaciones en los otros parametros estudiados: aumentó la excreción urinaria de PGE_2 ($P < 0.02$), aumentó la excreción urinaria de calicreínas ($P < 0.005$ para DOCA y $P < 0.05$ para Aldosterona), aumentó el flujo de orina al triple ($P < 0.02$ y 0.005 , tabla I) y se redujo la concentración plasmática de Renina desde 20.5 ± 2.6 hasta $5.0 \pm 1.4 \text{ ng/ml/h}$ ($P < 0.005$ para DOCA, Fig. 3). No hubo cambios significativos en el incremento de peso de los animales y se notó aumento en la ingesta de agua en los animales tratados con mineralocorticoides, aunque esta información no fué registrada regularmente. También se observó au-

mento del contenido ó actividad de calicreínas del tejido renal después del tratamiento con DOCA, desde 1.43 ± 0.12 hasta 2.07 ± 0.27 ng/g/min a los 14 días del tratamiento ($P < 0.001$, Fig. 3).

Efectos de la administración de Aprotinin (Trasylol) sobre la excreción urinaria de Prostaglandinas.

Después de un período control de 5 días, 5 ratas fueron tratadas con Aprotinin y se observó disminución de la excreción urinaria de PGE₂ en la orina desde 51.28 ± 8.16 hasta 23.16 ± 15.59 ng/día ($P < 0.025$, Fig. 1).

Efectos de la administración de Aprotinin sobre los efectos producidos por DOCA.

El tratamiento con DOCA produjo reducción en la excreción de sodio en 50% el primer día del tratamiento ($P < 0.025$) pero regresó a los valores controles al segundo día del tratamiento (fenómeno del "escape", Fig. 2). En la misma figura 2 se observa que tanto el flujo urinario como la excreción urinaria de Calicreínas y Prostaglandinas aumentaron significativamente con el tratamiento con el mineralocorticoide, al igual que en la serie 1 (tabla I).

TABLA I

EFFECTOS DE DEOXCORTICOSTERONA (DOCA) Y ALDOSTERONA SOBRE LA EXCRECIÓN URINARIA DE CALICREINAS Y PROSTAGLANDINAS "E" (PGE) EN LA RATA.

Tratamiento (14 días)	Excreción de "PGE" ng/día		Excreción de Calicreínas µg/día		Flujo urinario ml/día		Excreción de sodio mEq/día		Presión arterial sistólica mm Hg	
	C	E	C	E	C	E	C	E	C	E
DOCA (5 mg/día)	36.9	103.6	17.48	65.57	10.7	38.7	0.99	1.21	124	125
P	±9.7 ±18.2		±4.27 ±8.65		±1.8 ±5.6		±0.08 ±0.14		± 4 ± 5	
n = 6	< 0.02		< 0.005		< 0.02		NS		NS	
Aldosterona (0.25 mg/día)	38.5	95.4	18.5	46.71	11.3	34.6	1.47	1.85	114	118
P	±7.1 ±7.1		±3.76 ±8.64		±1.4 ±3.3		±0.07 ±0.2		± 3 ± 7	
n = 6	< 0.02		< 0.05		< 0.005		NS		NS	
Aceite (0.2 ml/día)	36.8	30.3	20.82	28.19	10.15	13.0	1.52	1.56	110	113
P	±7.4 ±3.7		±4.3 ±3.15		±1.8 ±2.3		±0.16 ±0.3		± 2 ± 2	
n = 5	NS		NS		NS		NS		NS	

C = significa período control (antes del tratamiento)

E = significa período experimental (después de 14 días de tratamiento).

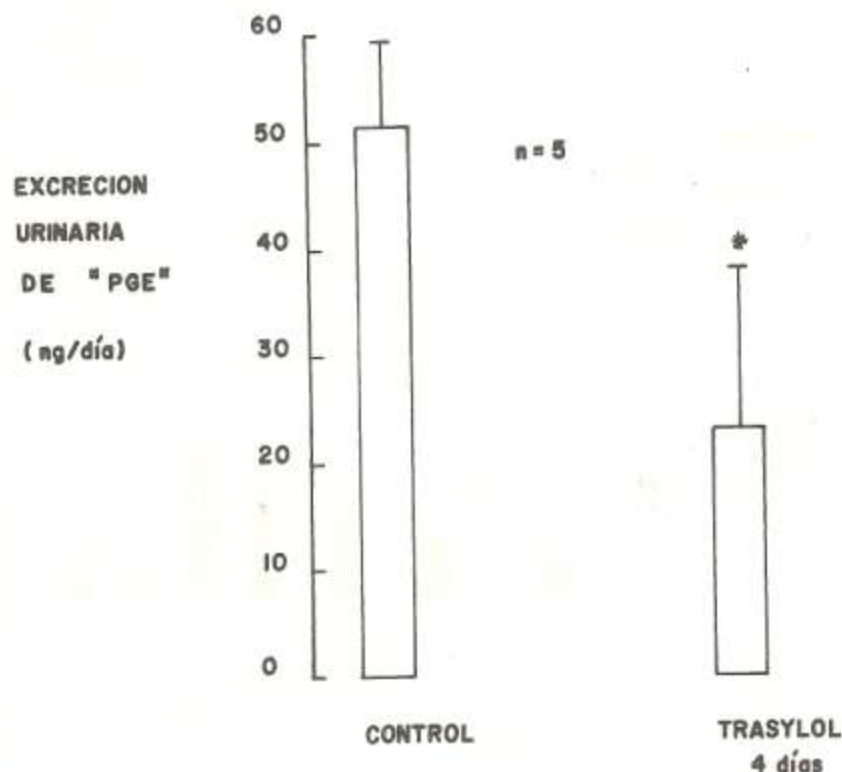


Fig. 1.— Efectos del tratamiento con Aprotinin (Trasyolol) sobre la excreción urinaria de Prostaglandinas E (PGE). Las barras verticales indican el error standard de la media. * = $P < 0.025$.

Después de la administración del inhibidor de las calicreínas (Aprotinin) (10, 47), la excreción de sodio y el flujo urinario fueron reducidos significativamente el primer día del tratamiento ($P < 0.001$) pero progresivamente retornaron a los valores previos al tratamiento, hacia el 4º día de administración de Aprotinin. La excreción de Calicreínas y Prostaglandinas en orina también fueron reducidas marcadamente hasta volver a valores iguales al control ($P < 0.001$) manteniéndose hasta el final del experimento (Fig. 2).

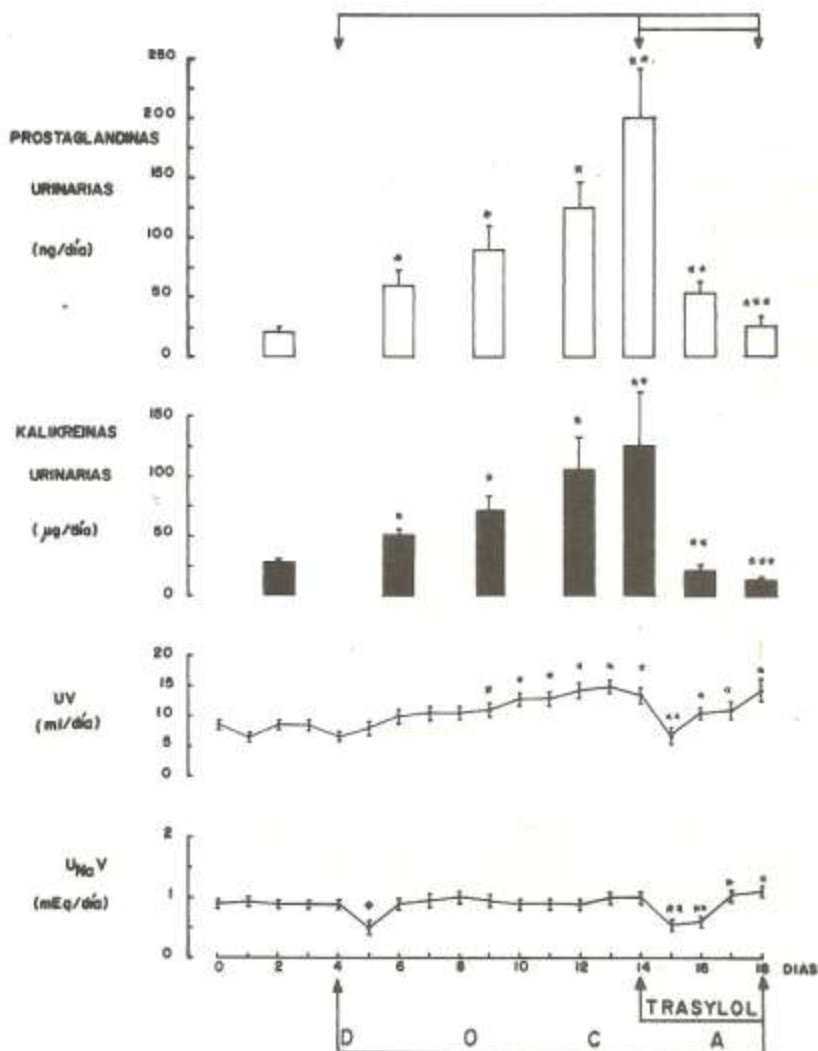


Fig. 2.— Efectos del tratamiento con Aprotinin (Trasyolol) sobre los efectos producidos por DOCA en ratas. $U_{Na}V$ = Excreción de sodio en orina. UV = Flujo urinario diario. N = 6 ratas. Las barras verticales indican el error standard de la media. * = $P < 0.025$; ** = $P < 0.001$; *** = $P < 0.005$.

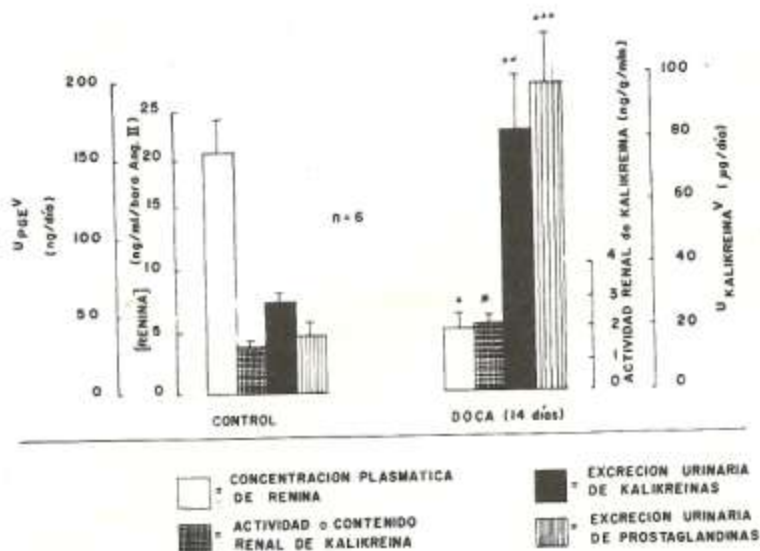


Fig. 3.-- Efectos del tratamiento con DOCA (14 días) sobre la concentración plasmática de renina (RENINA), contenido renal de calicreínas, excreción urinaria de Prostaglandinas ($U_{PGE V}$) y excreción urinaria de calicreínas ($U_{Kalicreína V}$) en la rata. Las barras verticales indican el error standard de la media. * = $P < 0.025$; ** = $P < 0.001$; *** = $P < 0.005$.

DISCUSION

La médula renal tiene la capacidad de sintetizar grandes cantidades de Prostaglandinas (19, 32, 33, 34); el tratamiento químico dado a las muestras de orina para extracción de ácidos grasos (2, 27), purificación y aislamiento (14) y el bioensayo (45) son específicos y dan buena evidencia de que las substancias medidas en la orina son Prostaglandinas. Además, Frölich y cols. han demostrado que el producto identificado en orina por métodos más sofisticados, son Prostaglandinas que provienen de la médula renal (12). Así mismo, las Calicreínas que se detectan en orina tienen su origen en el tejido renal (4, 39) y su medición tiene buen grado de confiabilidad (25) combinado con un bioensayo sensible y específico (37). Por último, en el riñón semiaislado del conejo perfundido con solución de Krebs, se demostró que tanto PGs como Calicreínas son eliminadas en la orina y vena renal, y que su única fuente era el riñón pues este órgano desconectado

del cuerpo del animal en su circulación; además ambas excreciones fueron bloqueadas por sus inhibidores específicos, el Aprotinin para las Calicreínas y la Indometacina para las Prostaglandinas (7, 10, 46, 47). Todos estos datos sugieren que las sustancias medidas en las muestras de orina de las ratas fueron Calicreínas y Prostaglandinas.

El tratamiento con mineralocorticoides fué efectivo para los grupos tratados. Se hicieron 2 grupos de tratamiento con mineralocorticoides como sistema de control (Aldosterona y DOCA). Los efectos del tratamiento con DOCA fueron más intensos que con Aldosterona, comprobándose una vez más que en la rata el mineralocorticoide más importante es Deoxicorticosterona (3), a diferencia del ser humano. Se observaron los efectos ya conocidos del efecto del tratamiento con mineralocorticoides ó de la presencia de un tumor hipersecretante de estas hormonas (8): en la tabla I se observa hubo poliuria y aumento en las excreciones urinarias de Calicreínas y Prostaglandinas, ni la excreción de sodio ni la presión arterial se modificaron al 14º día del tratamiento. El aumento en la excreción urinaria de Calicreínas viene a corroborar una vez más este hecho ya reportado (5, 13, 24), y el aumento en la excreción urinaria de Prostaglandinas por efecto de estas hormonas mineralocorticoides es reportado por primera vez. Además se midió el contenido ó actividad de Calicreínas en el tejido renal, el cual estaba aumentado (Fig. 3), reforzando la idea de que el efecto del esteroide se debió a aumento de la síntesis de Calicreína en tejido renal y ésto provocó aumento en su excreción urinaria.

No se detectó cambio en la excreción urinaria de sodio posiblemente porque la determinación se hizo al 14º día del tratamiento (tabla I) y el fenómeno del "escape" ya había sucedido; tampoco se detectó cambio en la presión arterial sistólica, aunque es sabido que el tratamiento con mineralocorticoides ó la hipersecreción de ellos en el humano cursa con hipertensión arterial (8). Esto probablemente sea debido a que en la rata se necesita además del exceso del mineralocorticoide, una ingesta de sodio adicional (18, 42) para producir el estado hipertensivo. Otro parametro que corrobora el efecto de DOCA es la disminución de la concentración plasmática de Renina en 75% ($P < 0.025$) después de 14 días de tratamiento (Fig. 3), este hecho caracteriza al Síndrome de hiperaldosteronismo primario y lo diferencia del secundario (9). Ha sido demostrado que DOCA suprime la actividad de sustancia presora del riñón (15, 16) posiblemente por un mecanismo de retro-alimentación negativo hacia la producción de Renina por el aparato yuxtglomerular del riñón (44). Toda esta evidencia en conjunto corrobora la idea de que los efectos producidos en los animales fué por las hormonas mineralocorticoides. Los valores controles de Renina plasmática (20.5 ± 2.6 ng/ml/h) están dentro de las cifras reportadas como normales en ratas por los autores del método (35).

Con el propósito de investigar si el aumento en la excreción urinaria de PGs fué consecuencia del aumento en la producción y excreción de Calicreínas como sucedió en el riñón semi-aislado del conejo (7), se examinaron los efectos del Aprotinin, un compuesto que inhibe las Calicreínas (10, 47) asumiendo que si se inhiben las Calicreínas también se debe inhibir ó reducir la excreción de PGs. En la figura 1 se aprecian los resultados del tratamiento de 5 ratas con Aprotinin solamente, y se aprecia que hubo reducción en la excreción urinaria de PGE₂ de 40% ($P < 0.025$), probablemente debido a la inhibición de la actividad de Calicreínas por la droga (10, 47). Para ampliar este hallazgo preliminar se hizo otra serie experimental midiendo Calicreínas en orina y a intervalos más cortos y seriados; en la figura 2 se aprecia que hubo inhibición en la excreción de sodio al primer día de tratamiento con DOCA, en 50% ($P < 0.025$), lo que traduce un aumento en la reabsorción tubular por efecto de la hormona, y este valor retornó a sus cifras controles al día siguiente, constituyendo el fenómeno del "escape". Se observa también la poliuria característica y los aumentos progresivos y simultáneos de excreciones urinarias de Calicreínas y PGs a partir del 5° día, alcanzando su máximo valor al 10° día. Después de la administración de Aprotinin hubo reducción significativa de la poliuria y excreción de sodio ($P < 0.01$) al primer día del tratamiento, pero estos valores alcanzaron su nivel previo progresivamente hacia el 4° día del tratamiento simultáneo de DOCA + Aprotinin. Las excreciones de Calicreínas y PGs en orina también fueron reducidas a cifras previas al tratamiento con DOCA. La inhibición que produjo el Aprotinin sobre las Calicreínas se reflejó en bloqueo de la excreción de PGE y bloqueo parcial del fenómeno del "escape" y la poliuria.

No podemos excluir un efecto directo de los mineralocorticoides sobre la síntesis, liberación e inactivación de PGs renales. No obstante, la demostración de que la Calicreína urinaria y tisular renal aumentaron en respuesta al tratamiento con los esteroides (Figs. 2 y 3) es consistente con la idea de que las quininas generadas intrarrenalmente pueden ser mediadoras de los efectos de los mineralocorticoides sobre las Prostaglandinas renales. De tal manera que las Calicreínas sintetizadas en la corteza renal (39) y probablemente liberadas a la orina a nivel de los túbulos distales (41) pueden actuar sobre el quininógeno para producir Calidina (Fig. 4), la cual a su vez podría alcanzar los sitios de síntesis de PGs en la médula renal (19) por vía de los túbulos colectores (Fig. 4).

Esta posibilidad está reforzada por la demostración de que Quininas libres en la orina tienen su origen dentro del riñón (36) y por la presencia de quininógeno en el riñón (40, 48); además en experimentos con riñones semiaislados de conejos perfundidos se demostró que el Aprotinin bloqueó la estimulación de la liberación de PGE producida por Quininógeno pero

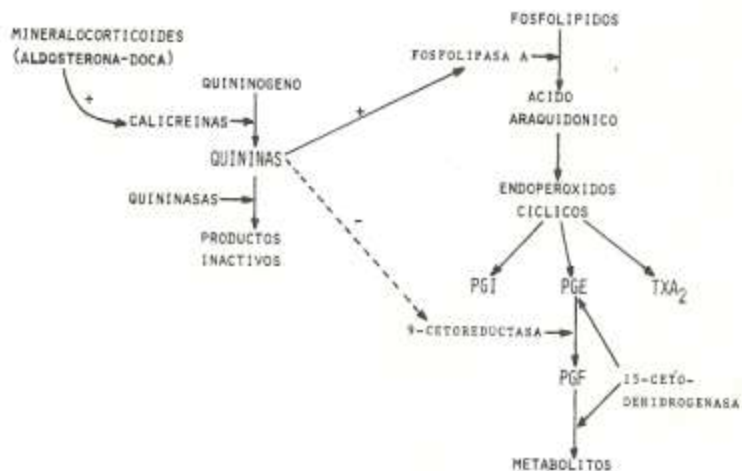


Fig. 4.— Posibles mecanismos de inter-relación entre los mineralocorticoides, sistema caliceína-quinina y prostaglandinas dentro del riñón. + = significa estimulación o activación. — = significa inhibición.

no por Bradiquinina, sugiriendo la presencia de Caliceínas que estimulaban la producción y liberación de PGs (7). La síntesis ininterrumpida de PGs por el riñón puede influenciar el flujo sanguíneo renal (23), la distribución del FSR (31) y la excreción de sodio (20). Así mismo las Caliceínas generadas intrarrenalmente parece que producen vasodilatación renal, diuresis y natriuresis (36); por otra parte es posible que exista una mediación de las acciones de PGs intrarrenalmente por Quininas ya que en el riñón de perro perfundido con sangre homóloga los efectos de la infusión de Bradiquinina sobre el FSR y depuración de agua libre fueron reducidos por Indometacina (23), un inhibidor de la síntesis de PGs (46).

Estas observaciones y nuestros hallazgos son sugestivos de interacciones entre mineralocorticoides, Quininas y PGs dentro del riñón y quizá también fuera de él, y puedan contribuir al mantenimiento de la presión arterial y homeostasis del sodio y agua, además del Potasio, y quizá también puedan contribuir a explicar el ó los mecanismos del fenómeno del "escape" de sodio y la poliuria asociados con los estados de hipermineralocorticoidismo (13, 24) (Fig. 2) ó con tumores hipersecretantes de estas hormonas (8). De tal manera que el aumento en la liberación renal de PGE₂ consecutivo a aumento en la actividad del Sistema Caliceína-Quinina producidos a su vez por los esteroides retenedores de sodio y agua (Fig. 4) pu-

diera provocar aumento en la excreción de sodio y agua como un mecanismo compensador (Fig. 2); la reducción inicial en flujo de orina y excreción de sodio observadas después de la administración de Aprotinin apoyan esta idea de que las Quininas y PGs puede que se opongan a las acciones renales de los esteroides retenedores de sodio y agua. Sin embargo, estas reducciones fueron transitorias y volvieron a sus valores previos. Por el momento no tenemos explicación a este fenómeno, sin embargo es posible que hubiese un efecto directo de Aprotinin sobre los mecanismos excretorios de sodio y agua superimpuesto a los otros efectos ya vistos, que al momento no tenemos datos experimentales para comprobar ó descartar.

En estados de depleción de sodio en los cuales la excreción de sodio está disminuída ó suprimida, existe elevada secreción de Aldosterona (hiperaldosteronismo secundario) y elevada excreción de Calicreínas urinarias (13), de tal manera que se una situación diferente e inversa a la planteada aquí. Una explicación posible para esta inconsistencia es que para que las Quininas provoquen liberación de PGE debe haber un balance de sodio positivo (30). En apoyo a esta probabilidad ha sido sugerido que la acción liberadora de PGE por Angiotensina II y Noradrenalina (hormonas presoras) están disminuídas en los estados deficientes de sodio (29).

Dos tipos de hormonas peptídicas —Angiotensina II y Quininas— que están involucradas en los mecanismos de regulación del flujo sanguíneo renal, excreción de sodio y agua en sentido inverso, se originan intrarrenalmente y ambas estimulan la liberación renal de PGE₂ (12, 27, 29, 36). Estas observaciones y los presentes hallazgos demostrando que Aldosterona y DOCA aumentan la excreción urinaria de Calicreínas y PGs sugieren que puede existir una interacción entre PGs, mineralocorticoides, Sistema Calicreína-Quinina y Sistema Renina-Angiotensina dentro del riñón y quizá fuera de él también (30). El hecho de que los mineralocorticoides aumenten la excreción urinaria de PGE₂ es muy probable que no esté relacionado con las alteraciones observadas en el Sistema Renina-Angiotensina producidas por el esteroide (Fig. 3), o sea, disminución de la concentración plasmática de Renina, puesto que está demostrado que Angiotensina II promueve la liberación renal de PGE (29, 38).

De acuerdo a McGiff y cols., puede haber 3 tipos de interacción entre Quininas y PGs correspondientes a la actividad biológica de las PGs (30): 1: Modulación; 2: Mediación y 3: Mantenimiento. La capacidad de bradiquinina para producir liberación de PGs tanto en el riñón como en otros tejidos es probablemente dependientes de la activación de una fosfolipasa u otra acilhidrolasa, lo que resulta en la formación de ácido araquidónico y de esta forma se realiza la síntesis de PGs (Fig. 4) y ha sido señalado

que esta estimulación de Quininas en la síntesis de PGs es específica para PGE₂ pero no para PGF_{2α} (7). Esta estimulación diferencial puede tener implicaciones importantes tanto fisiológicas como fisiopatológicas en términos de regulación del flujo sanguíneo y del tono vasomotor y del metabolismo hidromineral, puesto que ambas Prostaglandinas tienen efectos diferentes.

Esta información, combinada con el hecho conocido de la diversidad de actividades biológicas de PGE₂ y PGF_{2α} y sus diferencias farmacológicas sugieren que los procesos fisiológicos en los cuales ellas intervienen pueden estar controlados por una o varias enzimas que interconecten la síntesis de PGE₂ con PGF_{2α} (22) y hacen pensar en la idea de postular un sitio adicional para el efecto de las Quininas sobre la síntesis de PGs, además de estimular la fosfolipasa A (Fig. 4). En estudios recientes de Lee y Levine (22) de interconversión de PGE-PGF por la enzima 9-ceto-reductasa se da base para apoyar esta idea (Fig. 4) (30), o sea, que las Quininas generadas dentro del riñón estimulan la fosfolipasa A e inhiben la 9-ceto-reductasa, de tal manera que en nuestros experimentos se sintetiza PGE₂ pero no PGF_{2α} (7) y sería PGE₂ la que hace los efectos demostrados, de manera que la 9-ceto-reductasa sería el modulador final de la interacción Quininas-Prostaglandinas (Fig. 4).

Una teoría preliminar, basados en McGiff y cols (30) para explicar nuestros resultados es que en las ratas tratadas con DOCA la retención de sodio y agua produjera una disminución de 9-ceto-reductasa, es decir, que el efecto de las Quininas puede deberse al estado del balance del sodio y agua en el animal, hecho que es apoyado también por los estudios de Adetuyibi y Mills (1), quienes demostraron que hay 2 mecanismos renales de liberación de Calicreínas: uno está relacionado con la excreción de agua y es independiente de la excreción de sodio, y el otro está relacionado con el balance de sodio.

Agradecimientos

A Cheri L. Fry, Jo Anne Early y Sr. Ernesto Sánchez por su eficiente asistencia técnica. Al Dr. Gert L. Haberland, de la Compañía Farbenfabriken Bayer AG (República Federal Alemana) por hacer posible que obtuviéramos parte del Aprotinin utilizado; al Dr. Pablo Díaz-Galbán por su generosa donación de parte del Aprotinin utilizado. Al Dr. John Pike, de la Compañía UPJOHN de Kalamazoo, Michigan, USA, por su generosa donación de los Standards de Prostaglandinas (PGE₂ y PGF_{2α}) utilizados en los bioensayos. Financiado en parte por U.S. Public Health Service Grant HL 18579 y por Consejo de Desarrollo Científico y Humanístico de la Universidad del Zulia (CONDES).

ABSTRACT

Effects of mineralocorticoids on the kallikrein-kinin system and prostaglandins of the rat's kidney. Colina-Chourio J. (Universidad del Zulia, Facultad de Medicina, Cátedra de Fisiología, Maracaibo, Venezuela), Nasjletti A., McGiff JC. (Department of Pharmacology, University of Tennessee, Memphis, Tennessee, USA). *Invest Clín* 20(2): 51-69, 1979. - In male rats placed in metabolic cages and maintained on a commercial normal chow, the possibility that mineralocorticoid hormones augment Prostaglandin release from the kidney through the increase of the intrarenal activity of the kallikrein-kinin system was tested. The effects of Deoxycorticosterone acetate (DOCA, 5 mg) and d-Aldosterone (0.25 mg) in sesame oil injected daily SC during 14 days (0.2 ml) were studied. The treatment produced an increase in the urinary excretion of kallikrein from 17.46 ± 4.26 to 65.57 ± 8.65 $\mu\text{g/day}$ ($P < 0.005$) and of Prostaglandin E_2 from 36.9 ± 9.7 to 103.6 ± 18.2 ng/day ($P < 0.02$) and the plasma concentration of Renin was reduced from 20.5 ± 2.6 to 5.0 ± 1.2 ng/ml/h ($P < 0.005$). Sodium excretion was not affected although the escape phenomenon was observed, neither was systolic blood pressure affected. Injections of sesame oil alone did not affect any of the parameters studied. Aprotinin, a kallikrein inhibitor, given at 100,000 KIE/day blocked the effects produced by DOCA in the first day of treatment. These results suggest that interactions of mineralocorticoid hormones, kinins and Prostaglandins in the kidney might be important in the maintenance of sodium-water homeostasis.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- 1- ADETUYIBI A, MILLS IH: Relation between urinary kallikrein and renal function, hypertension and excretion of sodium and water in man. *Lancet* 2 (7770): 203-207, 1972.
- 2- BERGSTRÖM S, SJÖVAL J: The isolation of Prostaglandins. *Acta Chem Scand* 11: 1086, 1957.
- 3- BIRMINGHAM MK, WARD PJ: The identification of the Porter-Silver chromogen secreted by the rat adrenal. *J Biol Chem* 236 (6): 1661-1667, 1961.
- 4- CARRETERO OA, OZA NB, SCIOLI AG, SCHORK A: Renal tissue kallikrein, plasma renin and plasma aldosterone in renal hypertension. *Acta Physiol Latinoamer* 24 (5): 448-452, 1974.

- 5- COLINA-CHOURIO J, McGIFF JC, NASJLETTI A: Effects of corticosteroids on urinary kallikrein excretion. *Clin Res* 32 (4): 623A, 1974.
- 6- COLINA-CHOURIO J, McGIFF JC, NASJLETTI A: Development of high blood pressure following inhibition of Prostaglandin synthesis. *Acta Cient Venez* 27 (2): 90, 1976.
- 7- COLINA-CHOURIO J, McGIFF JC, MILLER MP, NASJLETTI A: Possible influence of intrarenal generation of kinins on Prostaglandin release from the rabbit perfused kidney. *Brit J Pharmacol* 58 (2): 165-172, 1976.
- 8- CONN JW: Primary aldosteronism, a new clinical syndrome. *J Lab Clin Med* 45 (1): 3-17, 1955.
- 9- CONN JW, COHEN EL, ROVNER DR: Suppression of plasma renin activity in primary aldosteronism. *JAMA* 190 (3): 213-221, 1964.
- 10- FORREL M: Therapy with kallikrein and protease inhibitors. *Ann N Y Acad Sci* 104 (1): 368-374, 1963.
- 11- FRIEDMAN M, FREED SC: Microphonic manometer for indirect determinations of systolic blood pressure in the rat. *Proc Soc Expt Biol Med* 70 (4): 670-672, 1949.
- 12- FRÖLICH JC, WILSON TW, SWEETMAN BJ, SMIGEL M, NIES AS, CARD K, WARSON JT, OATES JC: Urinary Prostaglandins: identification and origin. *J Clin Invest* 55 (4): 763-770, 1975.
- 13- GELLER RC, MARGOLIUS HS, PISANO JJ, KEISER HT: Effects of mineralocorticoids, altered sodium intake and adrenalectomy on urinary kallikrein in rats. *Circ Res* 31 (6): 857-861, 1972.
- 14- GREEN K, SAMUELSON B: Prostaglandin and related factors. XIX: Thin-layer chromatography of Prostaglandins. *J Lipid Res* 5 (1): 117-120, 1964.
- 15- GROSS F, SULSER F: Pressorische in den mieren experimentell hypertonscher ratten. *Arch Expt Pathol Pharmacol* 229: 374-380, 1956.
- 16- GROSS F, LOUSTALOT P, SULSER F: Die bedeutung von kochsalz für den cotexon-hochdruck der ratte und gehalt der nieren an pressorischen substanzen. *Arch Expt Pathol Pharmacol* 229: 381-388, 1956.

- 17- JACOBSEN S: Substrates for plasma kinin-forming enzymes in human, dog and rabbit plasmas. *Brit J Pharmacol Chemother* 26: 403-411, 1966.
- 18- KNOWLTON AI, LOEB EN, STOERK HC, SEEGAL BC: Deoxycorticosterone acetate: the potentiation of its activity by sodium chloride. *J Expt Med* 85 (1): 187-198, 1947.
- 19- LÄRSSON C, ANGGÅRD E: Regional differences in the formation and metabolism of Prostaglandins in the rabbit kidney. *Eur J Pharmacol* 21 (1): 30-36, 1973.
- 20- LEE JB, ATTALLAH AA: Response of intrarenal PGA₂ to salt loading in the rabbit. *Circ Res* 34-35 (Suppl I): 75-82, 1974.
- 21- LEE JB, PATAK RV, MOOKERJEE BK: Renal Prostaglandins and the regulation of blood pressure and sodium and water homeostasis. *Am J Med* 60 (6): 798-816, 1976.
- 22- LEE SC, LEVINE L: Prostaglandin metabolism. I: Cytoplasmic reduced nicotinamide adenine dinucleotide phosphatedependent and microsomal reduced nicotinamide adenine dinucleotide-dependent Prostaglandin E-9-ketoreductase activities in monkey and pigeon tissues. *J Biol Chem* 249 (5): 1369-1375, 1974.
- 23- LONIGRO AJ, ITSKOVITZ HD, CROWSHAW K, McGIFF JC: Dependency of renal blood flow on Prostaglandin synthesis in the dog. *Circ Res* 32 (6): 712-717, 1973.
- 24- MARGOLIUS HS, GELLER RG, de JONG W, PISANO JJ, SJÖERDSMA A: Urinary kallikrein excretion in hypertension. *Circ Res* 30-31 (Suppl II): 125-131, 1972.
- 25- MARIN-GREZ M, CARRETERO OA: A method for measurement of urinary kallikrein. *J Appl Physiol* 32 (3): 428-431, 1972.
- 26- MARIN-GREZ M, COTTONE P, CARRETERO OA: Evidence for an involvement of kinins in regulation of sodium excretion. *Am J Physiol* 223 (4): 794-796, 1972.
- 27- McGIFF JC, TERRAGNO NA, MALIK KU, LONIGRO AJ: Release of a Prostaglandin E-like substance from canine kidney by bradykinin. *Circ Res* 31 (1): 36-43, 1972.
- 28- McGIFF JC, NASJLETTI A: Renal Prostaglandins and the regulation of blood pressure, in Prostaglandins and cyclic AMP: biological actions and clinical applications (Kahn RH and Lands WEM ed) p. 119, Academic Press, New York 1973.

- 29- McGIFF JC, CROSHAW K, ITSKOVITZ HD: Prostaglandins and renal function. *Fed Proc* 33 (1): 39-47, 1974.
- 30- McGIFF JC, TERRAGNO DA, TERRAGNO NA, COLINA J, NASJLETTI A: Prostaglandins as modulators and mediators of kinins, in *Chemistry and Biology of the Kallikrein-Kinin System in Health and Disease* (Pisano JJ and Austen KF, ed) pl 267, Fogarty International Center Proceedings No. 27, DHEW Publication (NIH) No. 76-791, Bethesda 1974.
- 31- McGIFF JC, ITSKOVITZ HD, TERRAGNO NA: The actions of Bradykinin and Eledoisin in the canine isolated kidney: relationship to Prostaglandins. *Clin Sci Mol Med* 49: 125-131, 1975.
- 32- MUIRHEAD EE, JONES F, STIRMAN JA: Antihypertensive property of renoprival hypertension of extract from renal medulla. *J Lab Clin Med* 56 (2): 167-180, 1960.
- 33- MUIRHEAD EE, BROOKS B, PITCOCK JA, STEPHENSON P: Renomedullary antihypertensive function in accelerated (malignant) hypertension. Observation on renomedullary interstitial cells. *J Clin Invest* 51 (5): 181-190, 1972.
- 34- MUIRHEAD EE, GERMAIN GS, LEACH BE, BROOKS B, STEPHENSON P: Renomedullary interstitial cells (RIC), Prostaglandins (PG) and the anti-hypertension function of the kidney. *Prostaglandins* 3 (5): 581-594, 1973.
- 35- NASJLETTI A, MASSON GMC: A method for the measurement of plasma renin in the rat. *Proc Soc Expt Biol Med* 136 (2): 344-348, 1971.
- 36- NASJLETTI A, COLINA-CHOURIO JA, McGIFF JC: Disappearance of bradykinin in the renal circulation of dogs. Effects of kininase inhibition. *Circ Res* 37 (1): 59-65, 1975.
- 37- NASJLETTI A, COLINA-CHOURIO JA, McGIFF JC: Assay of kinins by their effects on canine femoral blood flow. *Proc Soc Exptl Biol Med* 150 (2): 493-497, 1975.
- 38- NEEDLEMAN P, KAUFFMAN AH, DOUGLAS JR, JOHNSON EM, MARSHALL GR: Specific stimulation and inhibition of renal prostaglandin release by angiotensin analogs. *Am J Physiol* 224 (6): 1415-1419, 1973.
- 39- NUSTAD K, VAAJE K, PIERCE JV: Synthesis of Kallikreins by rat kidney slices. *Brit J Pharmacol* 53 (2): 229-234, 1975.

- 40- SARDESAI VM: Determination of Bradykinin in blood and bradykininogen in tissues. *Canad J Physiol Pharmacol* 46 (1): 77-79, 1968.
- 41- SCICLI AG, CARRETERO OA, HAMPTON A, CORTES P, OZA NB: Site of kininogenase secretion in the dog nephron. *Am J Physiol* 230 (2): 533-536, 1976.
- 42- SELYE H, HALL CE, ROWLEY EM: Malignant hypertension produced by treatment with deoxycorticosterone acetate and sodium chloride. *Canad Med Ass J* 49 (1): 88-92, 1943.
- 43- SKEGGS LT, KAHN JR, MARSH WH: A method of assaying small amounts of hypertensin. *Lab Invest* 2 (2): 109-114, 1953.
- 44- TOBIAN L: Physiology of the juxtaglomerular cells. *Ann Int Med* 52: 395-399, 1960.
- 45- VANE JR: The Second Gaddum Memorial Lecture. The release and fate of vaso-active hormones in the circulation. *Brit J Pharmacol* 35 (2): 209-242, 1969.
- 46- VANE JR: Inhibition of Prostaglandin synthesis as a mechanism of action of aspirin-like drugs. *Nature* 231 (25): 232-235, 1971.
- 47- WERLE E, MAIER L, RINGELMAN E: Hemmung von proteinasen durch Kallikrein-inaktivoren. *Naturwissenschaften* 39: 328, 1952.
- 48- WERLE E, ZACH P: Verteilung von kininogen in serum und gewebe bei ratten und anderen saugtieren. *Z Klin Chem Biochem* 8: 186-189, 1970.