

## ARCHIVO HISTÓRICO



El presente artículo corresponde a un archivo originalmente publicado en el **Boletín de la Escuela de Medicina**, actualmente incluido en el historial de **Ars Medica Revista de ciencias médicas**. El contenido del presente artículo, no necesariamente representa la actual línea editorial. Para mayor información visitar el siguiente

vínculo: <http://www.arsmedica.cl/index.php/MED/about/submissions#authorGuidelines>

# Sistema caliceína-cininas y regulación de la función renal y presión arterial

Dr. Carlos P. Vío Lagos  
Profesor Adjunto Departamento de Ciencias Fisiológicas  
Facultad de Ciencias Biológicas

El sistema caliceína-cininas renal participa en complejos procesos como el control del volumen extracelular, regulación de la presión arterial, regulación de la excreción de sodio y agua, hemodinamia glomerular y secreción de renina. Además, se han descrito alteraciones de la caliceína en patologías como la hipertensión arterial, diabetes mellitus y otras.

## ASPECTOS HISTORICOS

El concepto del riñón como fuente de agentes vasoactivos data de 1898, con la demostración de Tigerstedt y Bergman que extractos renales producen hipertensión en perros. Posteriormente, Goldblatt en 1934 estableció las bases conceptuales de lo que hoy conocemos como sistema renina angiotensina.

Las primeras evidencias de una sustancia hipotensora en la orina corresponden a Abelous y Bardier en 1909 y a Frey en 1926; como se encontró en el páncreas, la denominaron caliceína (del griego *calicreas* = páncreas). El descubrimiento de un activador plasmático de caliceína permitió postular que la enzima estaba inhibida en la sangre y era activada en los tejidos, actuando en los vasos y en el miocardio.

En esta época se descubrió un inhibidor de caliceína en órganos de bovino, que se conocería más tarde como aprotinina (Trasylo<sup>l</sup>®, Bayer) y que ha probado ser una versátil herramienta terapéutica y experimental. Además, se estableció que caliceína era sólo una enzima proteolítica que producía una hormona polipeptídica (calidina o lys-bradicinina), la que actuaba sobre la presión arterial. La calidina era posteriormente inactivada irreversiblemente por proteínas plasmáticas y extractos tisulares (cininasas).

Rocha e Silva, en Brasil, descubrió otra cinina que llamó bradicinina, que también era producto de la acción de una enzima proteolítica (tripsina). Corto tiempo después se demostró que calidina y bradicinina se originaban de la misma proteína plasmática, el cininógeno, y sus secuencias aminoácidas fueron determinadas en 1960 y 1961.

El primer trabajo que describió la disminución de caliceína urinaria en la hipertensión arterial fue hecho por Elliot y Nuzum en 1934. A pesar de lo promisorio que era la idea de la existencia de un déficit de un sistema hipotensor en la hipertensión arterial, este estudio fue ignorado hasta 1970, cuando de manera independiente Croxatto y Margolius describieron algo similar en ratas hipertensas e hipertensos esenciales.

De esta época son los estudios sobre bradicinina y presión arterial de Croxatto *et al.*, quienes, analizando la orina de ratas hipertensas en la búsqueda de péptidos, encontraron una potente sustancia hipotensora de alto peso molecular (no dializable) y termolábil; su posterior caracterización les permitió identificarla como caliceína. Puede sostenerse así que el encuentro entre caliceína y el grupo del Dr. Croxatto fue accidental pero afortunado; su entusiasmo y la convicción que la caliceína participaba de manera importante en la regulación de la presión arterial antagonizando a renina, y que su deficiencia tenía un papel protagónico en la génesis de la hipertensión arterial, comprome-

tieron a un gran número de investigadores de esta y otras universidades en fructíferos estudios sobre la función del sistema caliceína-cininas.

## ESTADO ACTUAL DEL SISTEMA CALICEINA-CININAS RENAL

La principal acción de caliceína es producir cininas que actúan sobre su sustrato natural, cininógeno (Cng), aunque también se ha descrito su acción enzimática sobre otros sustratos (prorenina, péptido natriurético auricular, etcétera). Las cininas, por su parte, actúan en forma directa o vía prostaglandinas u otros mediadores como el óxido nítrico (ON).

Una representación esquemática de los componentes del sistema caliceína aparece en la Figura 1; ellos son:

- Caliceína; es una enzima proteolítica (PM 39 kDa) que se encuentra en tejidos y el plasma como procaliceína y caliceína activa.
- El sustrato o Cng, glicoproteínas (PM 68 y 110 kDa) que se sintetizan principalmente en el hígado.
- Las cininas, BK, lys-BK y des-Arg 9-BK, que son las hormonas efectoras (PM 1 kDa).
- Las cininasas; las más conocidas son la cininasa I, la cininasa II o enzima convertidora de angiotensina (ECA), la endopeptidasa neutra (NEP) y la endopeptidasa 24.15 (EP24.15), que se encuentran distribuidas en varios tejidos y en el plasma.

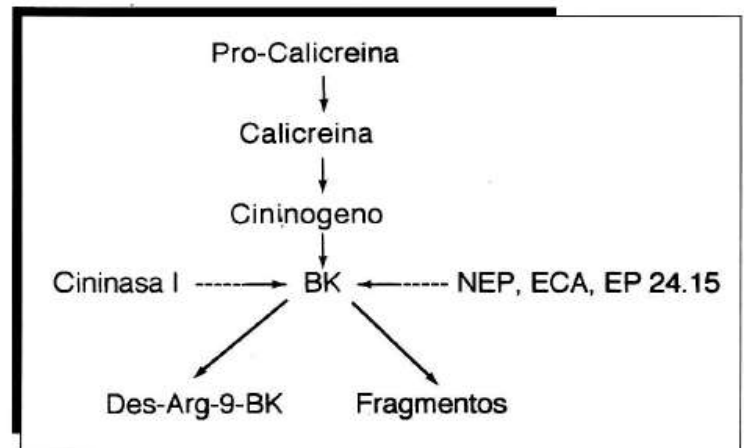


Figura 1. Esquema simplificado de los principales componentes del sistema caliceína-cininas



Existen dos clases de calcireína que, aunque comparten el nombre, son dos enzimas diferentes desde el punto de vista bioquímico, inmunológico y estructural: la tisular (EC 3.4.21.35) que está presente en tejidos como riñón, páncreas, glándulas salivales, hipófisis, etcétera, y la calcireína plasmática (EC 3.4.21.34), que se sintetiza en el hígado y que participa en el mecanismo intrínseco de la coagulación sanguínea y fibrinolisis. En esta revisión, el término calcireína se refiere sólo a la tisular.

El avance en la fisiología y fisiopatología del sistema calcireína-cininas renal ha sido lento, comparado con el de su biología molecular, lo que ha estado condicionado en parte por la complejidad morfológica del riñón. Actualmente se conocen tres tipos de nefrón, 11 segmentos tubulares y al menos quince tipos celulares diferentes. Si a éstos se suman los componentes glomerulares, vasculares, linfáticos e intersticiales, tenemos cerca de 30 tipos celulares en el riñón.

Resulta evidente que para entender la participación del sistema calcireína-cininas en el riñón deben considerarse no sólo todos sus componentes, sino también su localización celular exacta, para poder establecer los microambientes anatómicos donde su acción es factible.

### CALICREINA

La calcireína es una glicoproteína con un residuo serina en su sitio activo (serina-proteasa) que demuestra preferencia por los enlaces Met-Lys y Arg-Ser del Cng. La calcireína podría actuar sobre otros sustratos locales en los tejidos donde está presente. Un buen ejemplo de esto es la hipófisis, donde hemos identificado calcireína junto a prolactina en las células lactotropas y se ha demostrado, en experimentos *in vitro*, que la calcireína puede procesar prolactina a formas moleculares de menor tamaño.

**Biología molecular.** El conocimiento actual muestra que de la familia de «genes de calcireína» existente en el ratón, sólo uno de ellos corresponde a la calcireína verdadera, lo que también parece ocurrir en ratas y humanos. Este gen de calcireína se expresa en riñón, hipófisis, glándula salival, páncreas, arterias y colon.

El mRNA maduro de calcireína codifica una pre-procalcireína de 261 aminoácidos, que contienen un péptido señal de 18 aminoácidos, y un péptido zimógeno de seis aminoácidos. *In vitro*, la enzima ha sido activada por tripsina, pronasa, termolisina, fosfolipasa A, detergentes, etcétera, pero se desconoce qué factores son responsables de su activación en condiciones fisiológicas. En el tejido renal, un 85% de la enzima está como procalcireína, mientras que en la orina lo está un 50%, por lo que la búsqueda de su activador es relevante para entender su regulación.

**Localización renal.** La localización renal de calcireína ha sido producto de resultados coincidentes obtenidos con microdissección,

micropunción e inmunolocalización ultraestructural. Calcireína se encuentra exclusivamente en una de las células del nefrón distal, la célula conectora (cTCN), que junto con la célula intercalada constituyen el túbulo conector (TCN), segmento del nefrón interpuesto entre el túbulo contorneado distal (TCD) y el túbulo colector cortical (TCC) (Figura 2).

La cTCN pasó inadvertida hasta 1978, cuando se describieron por primera vez sus características ultraestructurales, las que están esquemáticamente representadas en la Figura 3. Este tipo celular tiene en su porción basal abundantes pliegues de la membrana plasmática que están en estrecho contacto con capilares sanguíneos con endotelio fenestrado.

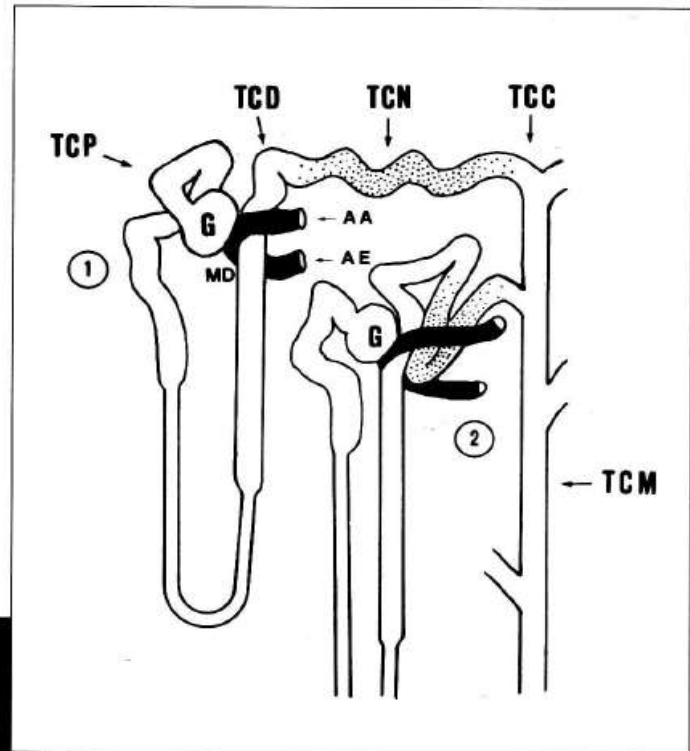
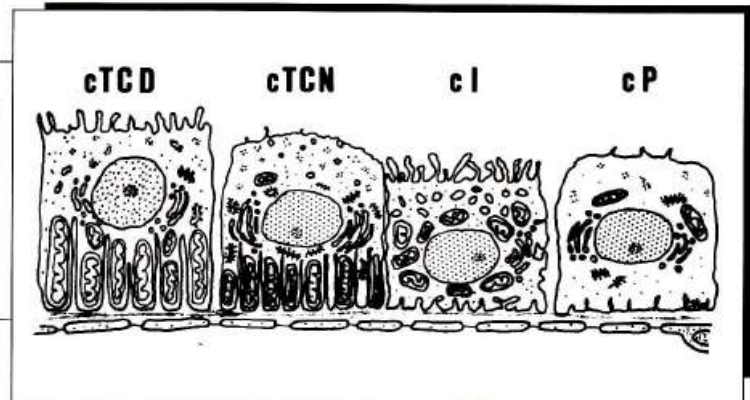


Figura 2. Representación esquemática del nefrón, y segmentos donde están presentes o actúan los componentes del sistema calcireína-cininas.

El nefrón 1 corresponde a su concepción tradicional, mientras que el nefrón 2 corresponde a un esquema hipotético, el cual es compatible con la estrecha relación anatómica que establece el túbulo conector con la arteriola aferente, como ha sido observado en riñón humano y de rata. G=glomérulo, TCP=túbulo contorneado proximal, TCD=túbulo contorneado distal, TCN=túbulo conector, TCC=túbulo colector cortical, TCM=túbulo colector medular, AA=arteriola aferente, AE=arteriola eferente, MD=mácula densa.

Figura 3. Representación esquemática de las células componentes del nefrón. El túbulo contorneado distal está compuesto por una célula única, la célula del túbulo contorneado distal (cTCD); el túbulo conector está compuesto de dos células, la célula conectora (cTCN) y la célula intercalada (ci); el túbulo colector cortical está compuesto por células intercaladas (ci) y por células principales (cP). En conjunto los túbulos conector y colector cortical contienen calcireína, cininógeno, cininasas y receptores de bradicina.





El uso de inmunocitoquímica ultraestructural nos permitió demostrar calcireína en el retículo endoplásmico rugoso, aparato de Golgi, vesículas de tipo secretorio y en las membranas plasmáticas lumbales y basales, confirmando trabajos previos de su actividad enzimática en fracciones subcelulares renales. Esta distribución subcelular nos permitió sostener que la cTCN era el lugar de síntesis de calcireína renal, lo que fue confirmado con hibridización *in situ*. Trabajos de Roblero *et al.* en riñones aislados, que han demostrado convincentemente la presencia de calcireína en los efluentes venoso y urinario, permiten postular que calcireína pasa a la circulación, donde podría participar en la regulación de la presión arterial.

Es importante destacar que la distribución de calcireína en ambas membranas, luminal y basolateral, le dan una localización estratégica para actuar sobre el Cng en el fluido tubular o en el espacio peritubular, generando cininas que afectan la función renal. Aunque la función específica de la cTCN es aún desconocida, ella está ubicada en un segmento del nefrón que participa de manera importante en la secreción tubular de potasio. El descubrimiento del lugar de origen renal de calcireína y su posible relación con el metabolismo de potasio, representa un avance mayor en el conocimiento de este sistema vasoactivo y ha abierto un importante campo de investigación clínica y experimental, como será discutido más adelante.

Otra importante observación, en cuanto a la localización de calcireína, es la existencia de un estrecho contacto anatómico entre el TCN y la arteriola aferente del aparato yuxtglomerular en riñón humano, relación similar a la que se ha observado en el riñón de rata. La estrecha relación anatómica entre las células productoras de calcireína y las de renina a nivel de la arteriola aferente, cerca del aparato yuxtglomerular, sugiere una función fisiológica y es consistente con una función paracrina del sistema calcireína-cininas en la regulación del flujo sanguíneo renal, filtración glomerular y secreción y/o activación de renina.

Por otra parte, la localización tan específica de calcireína en las cTCN ha permitido usarla como marcador morfológico de este segmento tubular, lo que permite estudiar selectivamente su ontogenia, sus alteraciones en la insuficiencia renal crónica, el compromiso tubular distal en el trasplante renal y la nefrotoxicidad por ciclosporina, como ha sido demostrado por Martínez *et al.*

## Regulación de calcireína

La calcireína urinaria se puede estudiar con relativa facilidad, y como es un buen reflejo de la calcireína renal, se ha medido su actividad en una gran variedad de condiciones fisiológicas, patológicas y con manipulaciones hormonales, farmacológicas o de la dieta. De esta manera se ha descrito que la excreción de calcireína urinaria se encuentra aumentada en el embarazo normal y disminuida en el embarazo patológico, en la hipertensión arterial esencial y experimental, en la insuficiencia cardíaca congestiva y en la diabetes mellitus.

La dieta rica en potasio estimula las cTCN, las que experimentan hipertrofia e hiperplasia, las cuales se correlacionan directamente con la mayor excreción urinaria de potasio y de calcireína. En un modelo de insuficiencia renal crónica (riñón remanente o nefrectomía 5/6) hemos observado una hipertrofia similar de las cTCN, que se correlaciona con una mayor excreción fraccional de potasio. Esto sugiere que la hipertrofia de las cTCN es responsable, al menos en parte, del mecanismo adaptativo por el cual los nefrones remanentes mantienen la potasemia dentro de rangos normales en la insuficiencia renal crónica.

Los hipertensos esenciales tienen disminuida la excreción de calcireína, deficiencia que tendría un rol patogénico en la hipertensión. Recientemente, Valdés *et al.* han demostrado que una suplementación moderada de potasio (64 mmol/día) reduce los niveles de presión arterial en hipertensos esenciales, y que esta reducción de la presión está acompañada de una mayor excreción de calcireína, que representa probablemente una mayor síntesis renal de la enzima. Este aumento de calcireína corregiría parcialmente la deficiencia enzimática observa-

da en estos enfermos, lo cual contribuiría, al menos en parte, al efecto hipotensor observado.

Debido a que, además del efecto estimulador de potasio, se ha observado que la dieta hiposódica aumenta los niveles de calcireína renal y urinaria, se pensó que la aldosterona sería su principal regulador. Sin embargo, estudios recientes han demostrado que la aldosterona no es capaz de aumentar la síntesis de calcireína ni los niveles renales de su mRNA. Esta ausencia de efecto estimulador de aldosterona es consistente con lo observado previamente por López *et al.* en pacientes con síndrome de Sheehan.

La relación que parece existir entre el metabolismo renal de potasio y la regulación de calcireína renal representa un cambio en la visión tradicional, ya que se pensaba que ella estaba regulada más bien por cambios en el metabolismo de agua y sodio. Esta asociación entre la excreción de calcireína, agua y sodio estaba en parte basada en el posible efecto de aldosterona, en su supuesta localización en las células del túbulo contorneado distal y colector, y en el potente efecto estimulador que tienen sobre ella los diuréticos. Hoy sabemos que calcireína no está presente en los túbulos contorneado distal o colector y que la aldosterona no estimula su síntesis. En relación a los diuréticos, haciendo un análisis retrospectivo, se puede concluir que sólo los diuréticos que eliminan potasio estimulan la excreción de calcireína (furosemida, hidroclorotiazida, etcétera), mientras que los diuréticos que retienen potasio (triamtereno, amiloride y espironolactona), inhiben su excreción.

Una dieta rica en proteínas produce un aumento de la filtración glomerular, del flujo plasmático renal y de la concentración de cininas urinarias, tanto en ratas como en humanos. Estos efectos se pueden revertir con la administración de un inhibidor de calcireína, como aprotinina o con antagonistas de BK, lo que sugiere que una dieta hiperproteica aumenta la síntesis o secreción de calcireína. Efectos similares sobre la hemodinámica glomerular, que muestran la participación de BK en ellos, se ha observado con la infusión de aminoácidos.

En la diabetes, la síntesis de calcireína disminuye. La hiperinsulinemia, por otra parte, aumenta su síntesis. En conjunto con lo anterior, la presencia de receptores de insulina en la membrana basolateral de los túbulos renales sugiere algún rol de insulina en la regulación de calcireína renal.

Hay varios trabajos que sugieren que la vasopresina aumenta la secreción y la producción renal de calcireína, pero los receptores de vasopresina V2 están en las células principales del túbulo colector, de ubicación más distal al lugar de síntesis de calcireína, por lo que el efecto de vasopresina sobre calcireína podría ser indirecto o mediado por receptores V1.

Recientemente se ha demostrado que la incubación de cortes renales con agonistas beta adrenérgicos (isoproterenol) induce una inhibición dosisdependiente de la liberación de calcireína, que está asociada temporalmente a un aumento de niveles intracelulares de AMPc. Este efecto inhibitorio de isoproterenol es revertido por un antagonista selectivo beta 1, pero no por un antagonista beta 2, indicando la existencia de un mecanismo inhibitorio directo mediado por receptores beta 1. Estos resultados son consistentes con la existencia de receptores beta en el TCN y con lo observado *in vivo*. Albertini *et al.* demostraron que la estimulación eléctrica de nervios renales disminuye la calcireína urinaria en gatos, y que tanto la inyección intracerebroventricular de propranolol como la denervación química estimulan la excreción de calcireína. Todo lo anterior permite postular que el sistema simpático modula la secreción de calcireína de manera inhibitoria.

Es importante destacar que la activación de receptores beta 1 adrenérgicos inhibe la secreción de calcireína y estimula la secreción de renina, estableciéndose una interesante vía regulatoria para estos sistemas vasoactivos con efectos opuestos.



## CININOGENO

Existen dos formas de Cng, el de alto peso molecular (HMW-Cng, PM 110 kDa) y el de bajo peso molecular (LMW-Cng, PM 68 kDa). El HMW-Cng es una de las proteínas que inician y propagan la coagulación sanguínea, mientras que el LMW-Cng está desprovisto de actividad procoagulante. Las cininas son liberadas de la cadena única del LMW-Cng o del HMW-Cng vía proteólisis limitada por caliceína (Figura 4).

El principal sitio de origen de Cng es el hígado, aunque también se ha visto en el túbulo colector, en las células principales, las que con frecuencia se observan cercanas a las células productoras de caliceína. Adicionalmente, se ha descrito la presencia de Cng en plaquetas

humanas y se ha demostrado que las células endoteliales humanas tienen sitios específicos que median la unión e internalización de HMW-Cng desde el plasma.

El Cng está en abundantes cantidades en el plasma (90-180 mg/ml). Esto significa que un ml de plasma puede potencialmente producir casi 3 mg de cininas; este Cng tiene acceso a la linfa y líquido intersticial. Independientemente de si este cininógeno se origina de la sangre o en parte del riñón, es posible la generación de cininas en el intersticio. Esto porque, además del Cng, la caliceína está presente en la porción basal de las cTCN, por lo que se puede postular que sitios anatómicos cercanos podrían ser efectores de la acción regulatoria de BK; células colectoras corticales y medulares (Figura 5) y células musculares lisas de arteriolas pre y postglomerulares, células mesangiales (Figura 6).

Figura 4. Este esquema muestra los sitios de corte en el cininógeno (Cng) que dan origen a las cininas, y abajo, los sitios de hidrólisis de bradisinina (BK) por acción de las cininasas. ECA: enzima convertidora de angiotensina; NEP: endopeptidasa neutra; EP24.15: endopeptidasa 24.15.

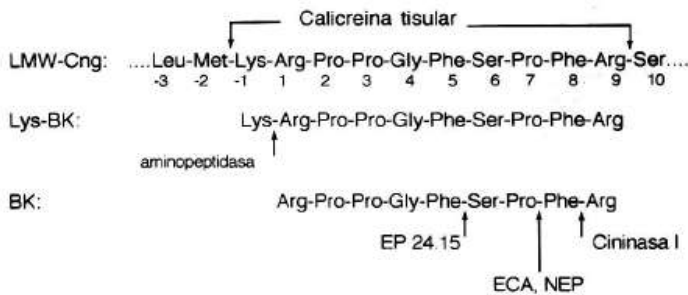


Figura 5. Microambiente compuesto por el túbulo conector (TCN) y túbulo colector cortical (TCC). Cng: cininógeno; BK: bradisinina. En este microambiente existen todos los componentes del sistema caliceína-cininas compatibles con la función paracrina de este sistema en la regulación de la excreción de agua y sodio.

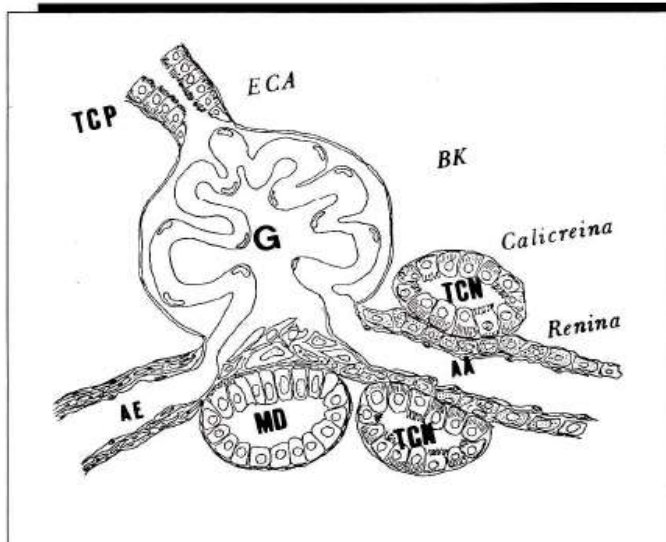
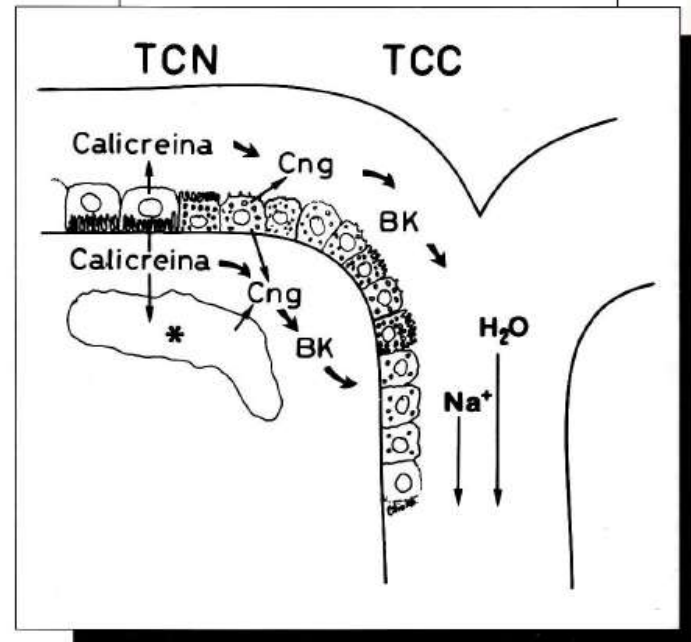


Figura 6. Microambiente compuesto por el túbulo conector (TCN) y el aparato yuxtaglomerular. En este microambiente existen todos los componentes necesarios para una función paracrina del sistema caliceína-cininas en la hemodinámica glomerular, filtración glomerular y secreción de renina. AA: arteriola aferente; AE: arteriola eferente; TCN: túbulo conector; MD: macula densa; G: glómulo; TCP: túbulo contorneado proximal.



## CININAS

La capacidad de BK de modular la función renal por las vías vascular y tubular ha sido estudiada con la administración de BK, de antagonistas de BK (BK-ant), anticuerpos anti BK, de inhibidores de cininas (enalapril, ramipril, fosforamidón) e inhibidores de caliceína (aprotinina).

### Efectos renales de la BK

- Aumenta el flujo sanguíneo renal y papilar.
- Es mediadora de la hiperfiltración e hiperperfusión glomerular inducida por la dieta hiperproteica y por la infusión de aminoácidos.
- Inhibe, en el túbulo colector aislado, la permeabilidad al agua inducida por ADH, la reabsorción neta de sodio secundaria a DOCA, y en células colectoras medulares la entrada conductiva de sodio sensible a amiloride.
- Induce la secreción de renina en glomerulos aislados y células yuxtglomerulares (mioepiteliales) en cultivo.
- Causa relajación dosisdependiente de arteriolas eferentes.

### Receptores

Al menos dos tipos de receptores de cininas (B1 y B2) han sido caracterizados. El receptor B1, cuyo agonista corresponde a des-Arg-9-BK, no se encuentra normalmente en los tejidos, sino que es inducido durante la injuria tisular o en ciertas condiciones patológicas. El receptor B2 tiene como agonistas a BK y Lys-BK, y es el responsable de la gran mayoría de los efectos conocidos de las cininas.

Más recientemente, y con el uso de un BK-ant [(Thi5,8-D-Phe7)-BK], ha aparecido un subtipo B2 o un receptor de cininas neuronal, como ha sido demostrado por Huidobro-Toro *et al.* y confirmado en una línea neuronal en cultivo.

Recientemente se clonó, secuenció y purificó el receptor B2 de BK, y el estudio de la distribución tisular de su mRNA muestra que está presente en útero, conducto deferente, riñón, corazón y pulmón, entre otros órganos. El receptor de BK pertenece a la gran familia de los receptores de 7 dominios de membrana acoplados a proteína G.

### Mecanismo de acción de BK

La unión de BK al receptor B2 produce:

- Activación de fosfolipasa C con formación de inositol trifosfato (IP3), movilización de calcio y activación de proteína-quinasa C.
- Activación de fosfolipasa A2, con formación de prostaglandinas y eventualmente activación de ambas fosfolipasas en la misma célula.
- Activación de adenilciclasa y guanilciclasa con la formación de AMPc y GMPc, respectivamente.

Por la variedad de segundos mensajeros activados, se deduce que el mecanismo de acción de BK puede ser diferente entre tejidos, y que en algunos órganos puede ser complejo, involucrando múltiples mediadores y segundos mensajeros.

El efecto vasodilatador de las cininas es mediado en parte por prostaglandinas y factores relajadores derivados del endotelio (EDRFs). Las cininas causan la liberación de EDRFs en varias arterias aisladas. Uno de los EDRFs corresponde a óxido nítrico, que actúa vía estimulación de guanilato ciclasa y formación de GMPc. Romero *et al.* han demostrado que la infusión de BK produce aumento del flujo sanguíneo renal, diuresis, natriuresis y kaliuresis en presencia de un inhibidor de la

síntesis de prostaglandinas. Todos estos efectos renales de BK son inhibidos por la infusión simultánea de N-monometil L-arginina, un inhibidor competitivo de la síntesis de ON. Por otra parte, la administración de L-arginina, un precursor de ON, restablece los efectos vasodilatadores y excretorios de BK, por lo que la respuesta vasodilatadora y excretora renal de BK es dependiente en parte de ON derivado del endotelio.

Esto no excluye a las prostaglandinas como mediadoras, sino que agrega otro mediador a sus efectos renales, ya que este efecto de ON se observa en condiciones de inhibición de la síntesis de prostaglandinas, faltando por conocer en cuánto contribuye cada uno de estos mediadores al efecto final de BK.

Los sitios renales de unión de BK se han localizado en el túbulo colector cortical y medular, y en menor cantidad en el glomérulo. En túbulos colectores corticales aislados, las cininas tienen efecto diurético y natriurético, que actúan desde el lado basolateral, lo cual hace relevante desde el punto de vista fisiológico la presencia de caliceína en la parte basal de las células conectoras.

Considerable evidencia sugiere que el efecto diurético de BK endógena es mediado en parte inhibiendo la reabsorción de agua y sodio estimulada por la vasopresina. *In vitro* se ha demostrado que la adición de BK a túbulos colectores corticales aislados y perfundidos, inhibe directamente el transporte de agua y sodio estimulado por vasopresina, efecto que es mediado por estimulación de la fosfolipasa C y activación de la proteína quinasa C, la que a su vez inhibe la producción de AMPc inducida por vasopresina.

## INHIBIDORES DE CALICEINA

En la sangre existen varios inhibidores potenciales de caliceína. Ninguno de ellos es específico para caliceína, sino que actúan sobre varias enzimas de la familia serina proteasas. El más importante de ellos, en términos de eficiencia, es la alfa 1-antitripsina, y existe cierto acuerdo que sería el inhibidor predominante de caliceína tisular.

**Aprotinina.** Es un inhibidor de caliceína (y de otras serina proteasas) purificado de tejido bovino que ha sido ampliamente usado para estudiar la posible contribución del sistema caliceína cininas en variadas condiciones fisiológicas y patológicas, por la ausencia de otros inhibidores efectivos de caliceína. En humanos o en ratas no se ha encontrado aún el inhibidor que corresponda a la aprotinina bovina.

Alguno de los efectos de aprotinina son: evita el aumento de renina inducido por furosemida o anestesia, disminuye el flujo sanguíneo renal e hiperfiltración glomerular secundarios a la dieta hiperproteica o infusión de aminoácidos, evita la disminución de la proteinuria en ratas nefróticas tratadas con enalapril, bloquea el aumento del flujo plasmático renal, filtración glomerular y excreción de sodio secundarios a captopril y fosforamidón, aumenta el balance glomerulotubular antagonizando el efecto de captopril y, finalmente, reduce el flujo sanguíneo, aumentando la resistencia vascular renal.

En clínica, el uso de aprotinina permitió a Rodríguez Portales *et al.* demostrar la contribución de las cininas, en el Síndrome de Bartter, en la regulación de la presión arterial, y que el aumento de la actividad del sistema caliceína-cininas es responsable en parte de la disminución en estos pacientes de su respuesta presora a angiotensina.

Estudios sobre la localización intrarrenal de aprotinina exógena demuestran que este inhibidor se encuentra presente, entre otros lugares, en el túbulo distal, lo cual permite postular que la aprotinina puede actuar sobre la caliceína en, o cerca, de su lugar de síntesis renal, interfiriendo con la acción paracrina del sistema caliceína-cininas.

## ACCION PARACRINA DEL SCC

De acuerdo a lo que actualmente se conoce de la localización de los componentes del sistema caliceína-cininas, en el riñón existen dos



microambientes anatómicos que cumplen con las condiciones necesarias para una función paracrina. Ellos son los túbulos conector + colector (TCN-TC) (Figura 5) y el aparato yuxtglomerular + túbulo conector (AYG-TCN) (Figura 6).

Desde el punto de vista anatómico, como se puede ver en la Figura 5, la ubicación de calicreína en el TCN le permite participar en la excreción de sodio y agua. Calicreína, en el intersticio o en el lumen tubular, actúa sobre su sustrato de Cng, abundante en ese segmento del nefrón, generando BK, la que actúa sobre el TCC y TCM, que son los segmentos ubicados inmediatamente después del TCN, inhibiendo la reabsorción de agua y sodio.

La estrecha relación anatómica existente entre el TCN (que contiene calicreína) con la arteriola aferente (que contiene renina) al llegar al aparato yuxtglomerular (Figura 6), da las bases anatómicas para postular una estrecha interacción bioquímica y funcional entre los sistemas renina y calicreína, y permite especular que ambos sistemas podrían participar en conjunto en la regulación del flujo sanguíneo renal, en la filtración glomerular y en el balance glomerular tubular.

Como se sabe, los efectores de ambos sistemas, angiotensina II y BK, tienen efectos opuestos en la resistencia vascular, presión arterial y función renal; estos sistemas comparten la misma enzima que convierte angiotensina I e inactiva BK; la estimulación beta adrenérgica aumenta la secreción de renina e inhibe la secreción de calicreína, etcétera. Además, se ha demostrado que la adición de calicreína a cortes renales aumenta la secreción de renina activa. Como este efecto de calicreína desaparece con aprotinina, su efecto parece depender de su actividad enzimática, pero no se sabe si su efecto es directo o vía generación de BK, aunque la infusión intraarterial de BK produce un aumento de la actividad renínica del plasma.

Los estudios *in vitro* han sido más convincentes, ya que en glomérulos aislados y superfundidos, BK ha demostrado ser un potente estímulo para secretar renina y en células yuxtglomerulares humanas en cultivo, BK también aumenta la secreción de renina, fenómeno asociado temporalmente con aumento intracelular de cAMP, lo que indica la existencia de receptores en las células yuxtglomerulares humanas.

La hipótesis del sistema calicreína-cininas que actúa como un sistema hormonal paracrino recibe apoyo adicional en otros tejidos con la descripción de la presencia de sus componentes en células musculares lisas de origen vascular. La presencia de calicreína en arterias ha sido confirmada de manera directa por la visualización de su mRNA. De esta manera, todos los componentes necesarios para una acción paracrina del sistema calicreína-cininas están en los vasos arteriales, pudiendo entonces BK participar en la regulación del tono arteriolar y la función de intercambio en la microcirculación.

Algo similar parece ocurrir en el útero, donde trabajos actualmente en desarrollo por Valdés y cols permiten sostener la existencia de calicreína en ese tejido, lo cual es de gran importancia para explicar los cambios en perfusión uterina que ocurren durante la implantación y la preñez.

## CININASAS

Por la existencia de múltiples enzimas capaces de activarlas rápidamente, parece evidente que las cininas están diseñadas para actuar como hormonas locales. Sin embargo, puesto que las cininas se encuentran en la circulación periférica, su efecto sistémico es posible. Serías limitaciones metodológicas para estimar correctamente sus valores reales en el plasma impiden por el momento decidir la cuestión de su efecto sistémico versus local, aunque, como ha sido demostrado por otras hormonas peptídicas como la angiotensina II, estas alternativas no son excluyentes. Las enzimas que clivan las cininas son llamadas genéricamente cininasas, aunque ellas hidrolizan también otros péptidos *in vivo* e *in vitro*. Las tres más importantes en el metabolismo de BK son la cininasas II o ECA, la endopeptidasa neutra 24.11 (NEP) y la endopeptidasa 24.15 (EP 24.15) (Figura 4).

Estas tres cininasas son Zn-metalopeptidasas (contienen cinc) e hidrolizan BK separando los dos aminoácidos (ECA y NEP) o los cuatro aminoácidos carboxiterminales (EP 24.15).

La ECA es la más conocida de las cininasas y sus inhibidores (ramipril, enalapril y similares) son de uso habitual en la práctica clínica. Es una enzima unida a membrana, pero a diferencia de otras peptidasas, también se encuentra en alta concentración en el plasma humano, probablemente originada de las células endoteliales. Sus niveles plasmáticos varían notablemente entre individuos, pero permanecen constantes en cada uno. Los factores involucrados en el control de los niveles plasmáticos de la enzima son desconocidos, pero parecen estar determinados genéticamente, ya que se ha observado una asociación familiar de estos niveles plasmáticos de ECA.

La NEP inactiva BK separando los aminoácidos Phe-Arg en el mismo lugar que ECA. Sin embargo, no es una segunda ECA, porque a diferencia de ésta, inactiva tanto angiotensina I como angiotensina II. Ambas están en abundantes cantidades en el riñón, siendo la principal diferencia entre ellas que la NEP está prácticamente ausente de las células endoteliales. NEP es responsable de aproximadamente un 70% de la actividad cininásica en orina, mientras que la cininasa I y ECA contribuyen con un 9% y 23%, respectivamente. Esto permitiría explicar que el aumento de la excreción de sodio y agua que se observa con la administración de su inhibidor (fosforamidón, thiorfan) se deba al aumento de cininas, aunque no se debe excluir la contribución de otros péptidos con acción diurética y natriurética, ya que la NEP también participa en el metabolismo de endotelina y del péptido natriurético auricular (ANP).

La EP 24.15 se encuentra en varios tejidos y en el plasma, degrada BK hidrolizando la unión entre los aminoácidos Phe-5 y Ser-6. La EP 24.15 recientemente ha adquirido relevancia, porque la administración endovenosa de un inhibidor específico, el cFP-AAF-pAB, potencia diez veces el efecto hipotensor de BK e incluso en ausencia de BK exógena produce un rápido efecto hipotensor, el cual es atenuado con el uso de antagonistas de BK.

## Proyecciones terapéuticas de inhibidores de cininasas

Los estudios sobre la participación del sistema calicreína en la regulación de la presión sanguínea y en la patogenia de la hipertensión arterial recibieron renovada atención desde el descubrimiento que la enzima convertidora de angiotensina I correspondía a la misma enzima que degrada bradicinina (cininasa II) y por el posterior desarrollo de drogas inhibidoras de esta enzima convertidora. Estas drogas, actualmente en uso, han probado ser eficaces reduciendo la resistencia periférica por un doble mecanismo: por una parte disminuyen los niveles de la hormona vasoconstrictora (angiotensina II) y, por otra, prolongan la vida media de la hormona vasodilatadora (BK), con el resultado final de un desbalance en favor de los factores vasodilatadores. Drogas de este tipo (ramipril, enalapril y otras similares) han demostrado que al reducir la resistencia periférica total, son útiles no sólo bajando la presión arterial en la hipertensión, sino también en la insuficiencia cardíaca, al reducir la postcarga.

Hoy está claramente establecido que las cininas contribuyen al efecto hipotensor de los inhibidores de la ECA, aunque no se ha podido demostrar claramente aumento de los niveles circulantes; sus niveles locales pueden afectar el tono vascular y la función excretora renal.

En teoría, puede postularse que al inhibir la degradación de BK por NEP existiría vasodilatación y disminución de la postcarga, aumento de la excreción de agua (por inhibición de vasopresina en el túbulo colector) e inhibición de la reabsorción de sodio. Al mismo tiempo, al inhibirse la degradación de ANP, disminuye la secreción de aldosterona y adicionalmente aumenta la excreción renal de sodio. Igualmente, con la inhibición de ECA y NEP, además de los efectos anteriormente descritos, se inhibirá la formación de angiotensina II.



Así como el uso de inhibidores de la ECA ha demostrado ser una efectiva herramienta terapéutica en la hipertensión arterial y en la insuficiencia cardíaca, el uso de inhibidores de otras metalopeptidasas como NEP y EP 24.15, aparecen como novedosas y promisorias posibilidades terapéuticas en un futuro cercano. El uso de inhibidores de cininasas no sólo es importante en los cuadros clínicos antes mencionados, sino también en la cardioprotección durante la isquemia miocárdica, en la regresión de la hipertrofia ventricular y vascular, así como en la progresión de la insuficiencia renal crónica, cuadros en los que hay creciente evidencia de la participación de cininas.

Algunos profesores de la Pontificia Universidad Católica de Chile que han contribuido con trabajos sobre distintos aspectos del sistema caliceína-cininas pertenecen a la Facultad de Ciencias Biológicas,

como R. Albertini, J. Belmar, M. Boric, E. Brandan, J. Corthorn, H.R. Croxatto, J.P. García-Huidobro, J. Roblero, R. Rosas y C.P. Vío, mientras que otros, a la Facultad de Medicina, como E. Arteaga, R. Corbalán, E. Guarda, J. Jalil, J.M. López, L. Martínez, J. Montero, J.A. Rodríguez Portales, S. Salas, G. Valdés. Han tenido también una destacada participación en estos estudios un gran número de estudiantes de Medicina y de Biología, y alumnos de nuestros programas de postgrado. Los estudios del autor han sido posibles gracias al continuo apoyo de FONDECYT y de la Dirección de Investigación de la Universidad Católica. Algunas de las contribuciones de los autores mencionados aparecen destacadas en el texto. Dado lo limitado del espacio disponible y el gran número de trabajos publicados, no ha sido posible citarlos a todos, por lo que hemos seleccionado sólo algunos en las referencias.

#### REFERENCIAS ESCOGIDAS

1. Croxatto HR. ¿Caliceína versus renina? *Rev Med Chile*, 1972; 100:708-717.
2. Croxatto HR. Caliceína renal y presión sanguínea. *Rev Med Chile*, 1981; 109:143-152.
3. Margolius HS. Tissue kallikrein and kinins: Regulation and roles in hypertensive and diabetic diseases. *Annu Rev Pharmacol Toxicol*, 1989; 29:343-364.
4. MacDonald RJ, Margolius HS, Erdos EG. Molecular biology of tissue kallikrein. *Biochem J*, 1988; 253:313-321.
5. Fuller PJ, Funder JW. The cellular physiology of glandular kallikrein. *Kidney Int*, 1986; 29:953-964.
6. Vío CP, Figueroa CD. Subcellular localization of renal kallikrein by ultrastructural immunocytochemistry. *Kidney Int*, 1985; 28:36-42.
7. Vío CP. Renal Kallikrein. En: Laragh JH, Brenner BM (ed): *Hypertension: Pathophysiology, Diagnosis and management*, New York, USA, Raven Press, 1990;819-829.
8. Jaffa AA, Vío CP, Silva RH et al. Evidence for renal kinins as mediators of amino acid-induced hyperperfusion and hyperfiltration in the rat. *J Clin Invest*, 1992; 89:1460-1468.
9. Bhoola KD, Figueroa CD, Worthy K. Bioregulation of kinins: kallikreins, kininogens, and kininases. *Pharmacol Rev*, 1992; 44:1-80.
10. Vío CP, Loyola S, Velarde V. Localization of components of the kallikrein-kinin system in the kidney: relation to renal function. *Hypertension*, 1992; 19:II10-II16.