

# Efectos celulares de los diuréticos: adquisiciones recientes en fisiología celular y renal

A. Tejedor

Servicio de Nefrología. Hospital General Gregorio Marañón. Madrid.

## Introducción

El volumen extracelular (VEC) es una de las constantes fisiológicas reguladas con más celo dentro del organismo. Mecanismos neurales y hormonales con varios niveles de retroalimentación aseguran dicha regulación pese a las variaciones diarias en la ingesta de agua y sodio<sup>1</sup>.

Sin embargo, en determinadas situaciones clínicas es necesario romper este equilibrio a fin de reducir el VEC. De modo esquemático dos grandes grupos sindrómicos, los estados edematosos (clásicamente, insuficiencia cardíaca congestiva, cirrosis y síndrome nefrótico) y la hipertensión, sea o no volumen dependiente, han sido las situaciones en las que la reducción del VEC se ha considerado uno de los principales objetivos terapéuticos.

El principal determinante del VEC es su contenido en Na<sup>+</sup>. Los mecanismos de osmorregulación (sed e ingesta de agua, ADH y eliminación de agua libre) mantienen rigurosamente constante la concentración de Na<sup>+</sup> en el VEC, por lo que los cambios en el balance externo de Na<sup>+</sup> no se acompañan *a priori* de cambios en la concentración de Na<sup>+</sup> en plasma, sino de cambios en el tamaño del VEC. De ahí que el medio más habitual utilizado en clínica para disminuir el VEC sea la reducción en el contenido de Na<sup>+</sup> del organismo.

Los diuréticos encuentran en este contexto su definitiva utilidad como promotores de pérdidas de Na<sup>+</sup> a través del túbulo renal. La mayoría de los diuréticos utilizados en la actualidad son inhibidores, en general poco específicos, de distintos sistemas de transporte de Na<sup>+</sup> a lo largo de la nefrona (furosemida, bumetanida, ácido etacrínico, xipamida, indapamida, clopamida, muzolimine, tiazidas). Otros son inhibidores enzimáticos (acetazolamida). Otros son análogos estructurales de hormonas (espironolacto-

na). Otros, en fin, se comportan como análogos estructurales del propio ion Na<sup>+</sup> (amiloride). Todos ellos tienen en común un efecto: bloquean, inhiben o disminuyen la reabsorción de Na<sup>+</sup> en uno u otro segmento tubular. Pero dependiendo del sitio y modo de acción, van a tener repercusiones variables sobre la fisiología celular y renal. En no pocas ocasiones tendrán más de un efecto o afectarán a más de un segmento tubular.

Este trabajo pretende encuadrar la acción de varios diuréticos en el contexto de la reabsorción de Na<sup>+</sup> a lo largo de la nefrona y mostrar algunos de sus efectos a nivel celular. Conocer dichos fenómenos nos puede ayudar tal vez a utilizar de modo más racional estos formidables fármacos y a comprender algunos de sus efectos secundarios.

## Túbulo proximal: la importancia de la reabsorción de bicarbonato

La vertiente basolateral del túbulo proximal está tapizada por millones de unidades de Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>-ATPasa, pequeñas bombas extrusoras de Na<sup>+</sup> que crean un gradiente electroquímico de Na<sup>+</sup> dentro de la célula, permitiendo la entrada de Na<sup>+</sup> por el borde en cepillo a través de sistemas de cotransporte de Na<sup>+</sup> con glucosa, aminoácidos, ácidos orgánicos, fósforo, etc., o de contratransporte de Na<sup>+</sup> × H<sup>+</sup> (fig. 1). Estos sistemas, fundamentales en el proceso de recuperación de azúcares y ácidos filtrados, no justifican, sin embargo, toda la reabsorción de Na<sup>+</sup> observada en el túbulo proximal. La inhibición *in vivo* de la Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>-ATPasa con infusión de derivados digitálicos (ouabaína) sólo inhibe un 35 % de la reabsorción proximal de Na<sup>+</sup><sup>2</sup>. A este nivel la bomba de Na<sup>+</sup> sólo juega un modesto papel en la reabsorción de la carga filtrada.

El factor principal en la reabsorción proximal de Cl<sup>-</sup> y Na<sup>+</sup> es, paradójicamente, la secreción de protones a la luz del túbulo<sup>3</sup>. En el primer segmento del túbulo proximal (S<sub>1</sub>) esta secreción es llevada a cabo en un 65-80 % por el intercambiador Na<sup>+</sup> × H<sup>+</sup> —energéticamente dependiente de la Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>-

Correspondencia: Dr. Alberto Tejedor.  
Servicio de Nefrología.  
Hospital General Gregorio Marañón.  
Doctor Esquerdo, 46.  
28007 Madrid.

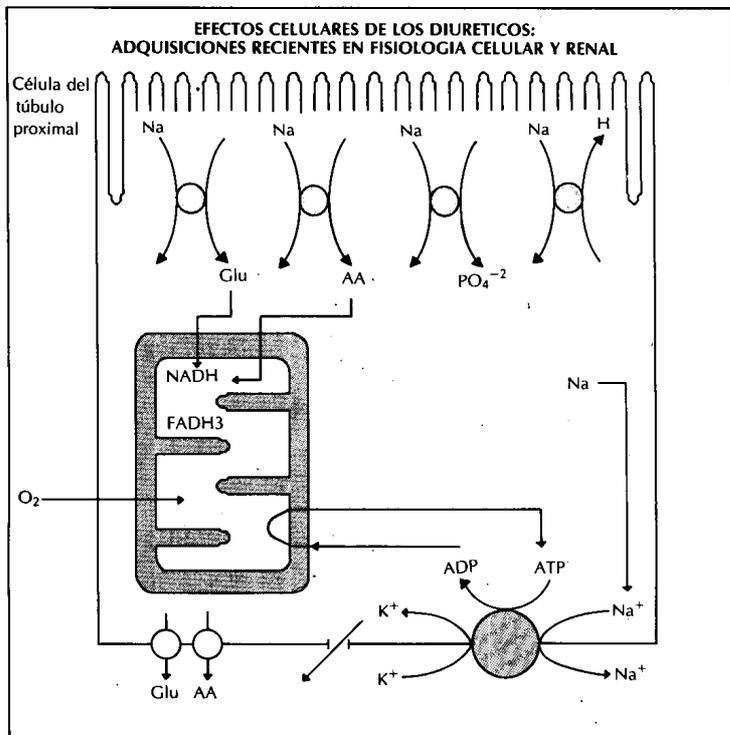
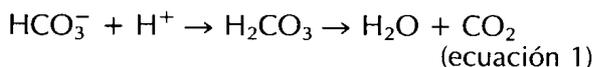


Fig. 1.—Esquema del transporte vectorial de Na<sup>+</sup> a través de una célula del túbulo proximal.

ATPasa— y en un 20-35 % por la bomba de protones, H<sup>+</sup>ATPasa<sup>4-6</sup>. La presencia de H<sup>+</sup> en la luz de este segmento determina la reabsorción isotónica de cerca del 90 % del HCO<sub>3</sub><sup>-</sup> filtrado en forma de CO<sub>2</sub> y H<sub>2</sub>O<sup>6</sup> (fig. 2):



Ello requiere la presencia de anhidrasa carbónica en la luz del túbulo<sup>6, 7</sup> (fig. 2). Dentro de la célula la demanda de H<sup>+</sup> del intercambiador Na<sup>+</sup> x H<sup>+</sup> determina, a su vez, la regeneración intracelular de HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>, el cual atraviesa la membrana basolateral a través de dos sistemas de transporte: el cotransportador (HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>)<sub>3</sub>Na<sup>+</sup>, principal responsable del transporte de HCO<sub>3</sub><sup>-</sup> desde la célula hasta el espacio pericapilar<sup>8</sup>, y el intercambiador HCO<sub>3</sub><sup>-</sup> x Cl<sup>-</sup><sup>9</sup>, que en este segmento es poco activo y tiende a extruir HCO<sub>3</sub><sup>-</sup> (fig. 2).

Así pues, en los primeros micrones del túbulo proximal el volumen filtrado es gradualmente reducido y la concentración de HCO<sub>3</sub><sup>-</sup> cae de 25 a aproximadamente 5 mM<sup>3, 6</sup>. Esta reducción determina un aumento proporcional en la concentración tubular de Cl<sup>-</sup> en las porciones más distales del túbulo proximal (S<sub>3</sub>)<sup>3</sup>. La diferencia de potencial (PD) positiva producida por este gradiente de Cl<sup>-</sup> en la luz tubular sería la responsable de la difusión pasiva de Na<sup>+</sup> y H<sub>2</sub>O

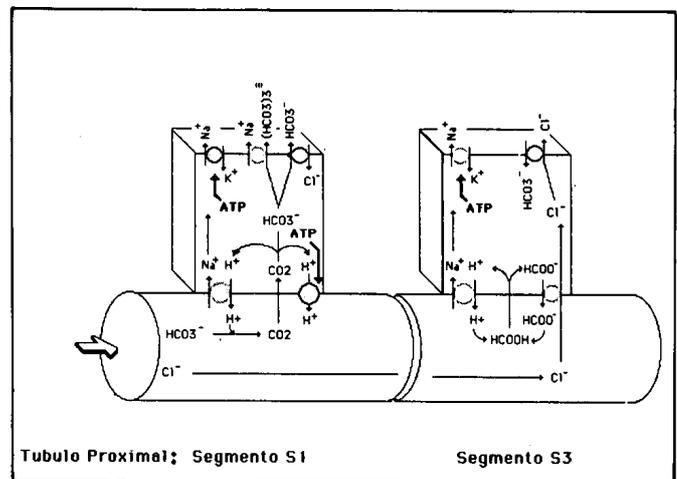


Fig. 2.—Esquema de la reabsorción proximal de NaHCO<sub>3</sub> y NaCl. A nivel de S<sub>1</sub>, la secreción de H<sup>+</sup> a través del intercambiador Na<sup>+</sup> x H<sup>+</sup> y de la bomba de H<sup>+</sup> permite la reabsorción de la mayor parte del HCO<sub>3</sub><sup>-</sup> filtrado. A nivel de S<sub>3</sub>, el circuito formado (HCOO<sup>-</sup>/ácido fórmico (HCOOH) permite reciclar los H<sup>+</sup> secretados por el intercambiador Na<sup>+</sup> x H<sup>+</sup> al tiempo que se reabsorbe en paralelo Na<sup>+</sup> y Cl<sup>-</sup>.

desde el túbulo hacia la sangre<sup>6, 10</sup>. El propio Cl<sup>-</sup> seguiría dos rutas en su reabsorción: un 50-60 % seguiría una vía paracelular a través de las uniones estrechas entre las células, y el 40-50 % restante otra transcelular utilizando transportadores apicales y basolaterales específicos<sup>12, 12</sup>. El Cl<sup>-</sup> atraviesa la membrana apical a través del intercambiador Cl<sup>-</sup> x HCOO<sup>-</sup> (formato). Este transportador, descrito en 1985 por Aronson<sup>13</sup>, permite explicar de modo elegante, aunque aún no comprobado, parte de la reabsorción proximal de Cl<sup>-</sup>. El HCOO<sup>-</sup> bombeado hacia la luz formaría HCOOH (ácido fórmico) en la luz tubular en presencia de los protones segregados por el intercambiador Na<sup>+</sup> x H<sup>+</sup> (fig. 3). El ácido fórmico así generado difundiría pasivamente a la célula, disociándose de nuevo en HCOO<sup>-</sup> y H<sup>+</sup>. Así, la secreción de protones por el intercambiador Na<sup>+</sup> x H<sup>+</sup> en el segmento más distal del túbulo proximal, donde la reabsorción de HCO<sub>3</sub><sup>-</sup> es próxima a cero, contribuiría indirectamente a la reabsorción de Cl<sup>-</sup>. El Cl<sup>-</sup> intracelular saldría fuera de la célula por difusión pasiva o a través del intercambiador Cl<sup>-</sup> x HCO<sub>3</sub><sup>-</sup> basolateral, que funcionaría al revés que en segmentos anteriores (S<sub>1</sub>) del túbulo proximal (fig. 2).

La reabsorción de Na<sup>+</sup> a nivel proximal está regulada por factores físicos glomerulares (presión de filtración, vasoconstricción eferente), intratubulares (flujo luminal, efecto de «capa inmóvil») y peritubulares (equilibrio de presiones hidrostáticas y oncóticas)<sup>14</sup>. Sólo recientemente ha comenzado a recibir mayor atención la regulación neurohumoral del transporte de Na<sup>+</sup> a este nivel. Hoy sabemos que el intercambiador Na<sup>+</sup> x H<sup>+</sup>, responsable en gran

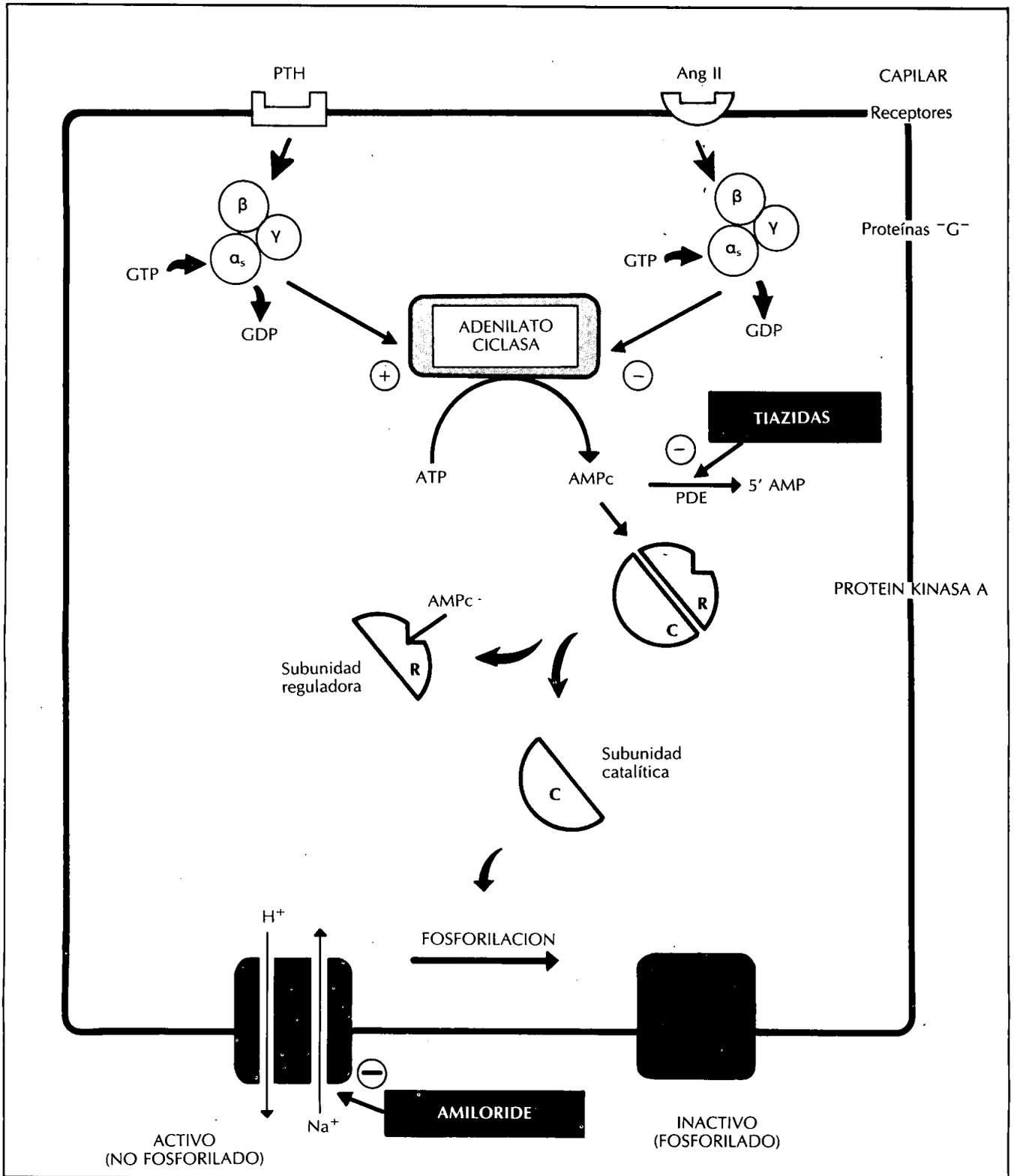


Fig. 3.—Encrucijada de la adenilato ciclasa (AC) en el túbulo proximal. La AC es estimulada por la PTH a través de una proteína G activadora (trímero α<sub>s</sub>, β, γ) capaz de ligar e hidrolizar GTP. La angiotensina II inhibe la AC a través de una proteína G inhibidora (α<sub>i</sub>, β, γ). La AC aumenta los niveles celulares de AMPc, lo que lleva consigo la activación de la subunidad catalítica («C») de la protein quinasa A. El intercambiador Na<sup>+</sup> × H<sup>+</sup> se inactiva cuando es fosforilado por la subunidad «C» de la protein quinasa A.

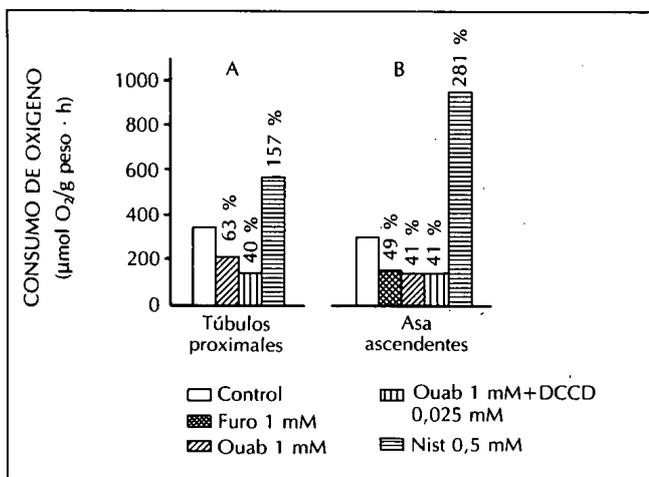


Fig. 4.—Componentes del consumo de O<sub>2</sub> en túbulos proximales y asas ascendentes. Panel A: Consumo de O<sub>2</sub> en túbulos proximales en condiciones basales (en presencia de lactato 10 mM y glutamina 10 mM), en condiciones de inhibición de la bomba de Na<sup>+</sup> (ouabaína 1 mM), en condiciones de inhibición de la bomba de Na<sup>+</sup> y de la bomba de H<sup>+</sup> (ouabaína 1 mM + DCCD 0,025 mM) y en condiciones de máxima estimulación de la bomba de Na<sup>+</sup> (Nistatina 0,5 mM). Panel B: Consumo de O<sub>2</sub> en asas de Henle. Leyenda según panel A. Se añade el consumo de O<sub>2</sub> en presencia de bloqueo de la entrada apical de Na<sup>+</sup> por furosemida (furosemida 1 mM). Obsérvese la relación entre el efecto de la furosemida y la ouabaína, y la ausencia de consumo de O<sub>2</sub> sensible a DCCD en este segmento. Obsérvese, asimismo, la relación asa de Henle/túbulo proximal en cuanto a la capacidad máxima de la bomba de Na<sup>+</sup> (Nistatina 0,5 mM).

parte de la reabsorción de NaHCO<sub>3</sub> proximal, es inactivado al ser fosforilado por la protein quinasa A dependiente de AMPc<sup>15</sup>. La PTH aumenta el AMPc proximal, inhibe la actividad del intercambiador y provoca bicarbonaturia. Por otro lado, las catecolaminas alfa-2 y la prostaglandina PGE2 disminuyen el AMPc<sup>16</sup> y estimulan la actividad del intercambiador<sup>17</sup>. Desde hace unos meses existe evidencia de que la angiotensina II estimula el intercambiador Na<sup>+</sup> × H<sup>+</sup><sup>18</sup>, probablemente a través de una disminución de los niveles de AMPc<sup>19, 20</sup> (fig. 3). Así pues, el aumento de AMPc proximal tendría un efecto bicarbonatúrico y de reducción de la reabsorción de Na<sup>+</sup>, y la disminución de AMPc el efecto contrario. Una de las acciones de las tiazidas tiene lugar a este nivel. La encrucijada del AMPc y sus modificaciones por PTH y angiotensina II probablemente permitirá explicar buena parte de las interrelaciones entre el control del VEC y el equilibrio ácido-básico.

Desde el punto de vista energético, el O<sub>2</sub> consumido por la célula proximal, y, por tanto, el ATP producido, se destina mayoritariamente a dos procesos (fig. 4 A): un 37 % va a la Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>-ATPasa y es sensible a la ouabaína, un 23 % va a la H<sup>+</sup>-ATPasa y es inhibido por el DCCD (di-ciclohexil-carbo-diimida)<sup>21</sup>. Aproximadamente, un 10 % de la actividad de la Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>-ATPasa se dedica al intercambiador

Na<sup>+</sup> × H<sup>+</sup> y el resto es utilizado en energizar el co-transporte de Na<sup>+</sup> con glucosa, aminoácidos, ácidos orgánicos, fósforo, etc. (A. Tejedor y P. Vinay; observaciones no publicadas).

Así pues, la reabsorción de Na<sup>+</sup> en el túbulo proximal dependería primariamente de la generación de un gradiente de Cl<sup>-</sup> transtubular, y éste, a su vez, de la secreción de H<sup>+</sup> y reabsorción isohídrica de bicarbonato<sup>3, 10</sup>.

Los diuréticos que actúan a este nivel: acetazolamida, tiazidas y amiloride, interfieren significativamente con la reabsorción de bicarbonato.

### Acetazolamida

La acetazolamida pertenece al grupo de las sulfonamidas. Es un inhibidor no competitivo de la anhidrasa carbónica que debe su actividad a la presencia de un grupo N-sulfamídico en su molécula<sup>22</sup>. Al actuar sobre la anhidrasa carbónica presente en el borde en cepillo del túbulo proximal impide la formación de H<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> a partir del HCO<sub>3</sub><sup>-</sup> filtrado y de los H<sup>+</sup> secretados (ver ecuación 1), inhibiendo la reabsorción de bicarbonato. Dicha inhibición aumenta la concentración de bicarbonato a nivel de S<sub>3</sub>, lo que interfiere con el desarrollo normal de los gradientes de cloro ya mencionados<sup>6</sup>. Este efecto es responsable de la disminución en la reabsorción proximal de Na<sup>+</sup> y Cl<sup>-</sup>. Hay aumento en la oferta distal de Na<sup>+</sup> y bicarbonato y se produce natriuresis, kaliuresis y bicarbonaturia. El aumento de Na<sup>+</sup> en la mácula densa estimula el «feed-back» glomérulo-tubular y reduce el filtrado glomerular<sup>23</sup>. Este efecto es discutido en la sección correspondiente a «asa ascendente y mácula densa».

Pero, además, la acetazolamida tiene efectos inesperados sobre el metabolismo proximal. Recientemente hemos encontrado<sup>24</sup> que es capaz de interferir de varias formas con la amoniogénesis renal:

1. Si bien el consumo de glutamina y la producción de NH<sub>4</sub><sup>+</sup> no se afectan, la alcalinización de la luz tubular reduce la secreción de NH<sub>4</sub><sup>+</sup> hacia la luz, determinando su paso hacia la vena renal en lugar de hacia la vertiente urinaria; la consecuencia inmediata de esta derivación es la no generación neta de bicarbonato a partir de la amoniogénesis. En condiciones normales el alfa-cetoglutarato<sup>-</sup> obtenido por desaminación de la glutamina<sup>o</sup> es oxidado a CO<sub>2</sub> o transformado en glucosa<sup>o</sup>. Cualquiera de estos procesos genera dos moléculas de HCO<sub>3</sub><sup>-</sup> por cada alfa-cetoglutarato<sup>-</sup> que desaparece<sup>25</sup>. La condición para que este bicarbonato sea útil es que los dos NH<sub>4</sub><sup>+</sup> obtenidos previamente (glutamina<sup>o</sup> → alfa-cetoglutarato<sup>-</sup>) se eliminen hacia la orina<sup>25</sup>. La acetazolamida impide dicha eliminación, pasando los 2NH<sub>4</sub><sup>+</sup> y los 2HCO<sub>3</sub><sup>-</sup> a la vena renal. Ambos serán utilizados para su transformación en urea en el hígado:



Y la amoniogénesis ocurrirá sin generación neta de bicarbonato. Este fenómeno contribuye en gran medida a la acidosis metabólica observada con el uso de este diurético.

2. Por otro lado, la acetazolamida interfiere con la gluconeogénesis renal, probablemente inhibiendo la anhidrasa carbónica mitocondrial<sup>26</sup> (\*) necesaria en la actividad de la fosfoenolpiruvato carboxikinasa. Este efecto, si bien de poca relevancia en el control global de la glucemia, sí contribuye a disminuir de modo marcado la generación de  $\text{HCO}_3^-$  por el riñón a partir de sustratos del ciclo de Krebs.

Otros enzimas renales inhibidos por la acetazolamida de modo competitivo han resultado ser la alfa-cetoglutarato deshidrogenasa y la succinil CoA sintetasa<sup>24</sup>, si bien estos últimos efectos requieren niveles circulantes de diurético más altos de los habitualmente observados en la práctica clínica.

### Tiazidas

Las tiazidas son sulfamyl-benceno derivados, compuestos químicamente emparentados con otras sulfonamidas como la acetazolamida o la furosemida. La acción diurética de las tiazidas es una de las más complejas e incluye efectos proximales y distales<sup>27</sup>.

A nivel proximal tiene tres efectos principales:

En primer lugar, es capaz de inhibir la anhidrasa carbónica<sup>22, 27</sup>, si bien su efectividad es inferior a la de la acetazolamida.

En segundo lugar, inhibe la actividad de la AMP-fosfodiesterasa<sup>28</sup>, con lo cual aumenta la vida media del AMPc celular. A nivel proximal el AMPc parece ser el principal regulador de la desactivación-activación del intercambiador  $\text{Na}^+ \times \text{H}^+$ , y su concentración está determinada por la interacción entre los sistemas de transducción hormonal que convergen en la adenilato ciclasa (fig. 3). La PTH se une a su receptor y es capaz, vía una proteína  $\text{G}\alpha_2\text{S}$  (estimuladora), de activar la adenilato ciclasa, aumentando los niveles de AMPc. Este activa una proteína quinasa «A», cuya subunidad catalítica es entonces liberada, fosforilando directa o indirectamente el intercambiador  $\text{Na}^+ \times \text{H}^+$ . El resultado de esta fosforilación es la inhibición del transportador y la disminución en la reabsorción de  $\text{HCO}_3^-$  a nivel proximal. Por otro lado, hormonas como la angiotensi-

na II,  $\text{PGE}_2$  y catecolaminas alfa-2 son capaces, vía proteínas  $\text{G}\alpha_i$  (inhibidoras), de inhibir la adenilato ciclasa proximal, reduciendo los niveles de AMPc. El resultado final es una activación del intercambiador  $\text{Na}^+ \times \text{H}^+$ , con aumento de la reabsorción proximal de  $\text{NaHCO}_3$  y  $\text{NaCl}$ . El AMPc es degradado regularmente por fosfodiesterasas intracelulares que aseguran una vida media corta del mismo, factor esencial para ajustar con rapidez la reabsorción de  $\text{HCO}_3^-$  a posibles cambios en la situación hormonal. Las tiazidas inhiben la fosfodiesterasa, lo que lleva consigo un aumento en el nivel y duración de la concentración de AMPc, produciendo una inhibición «PTH-like» de la reabsorción de  $\text{HCO}_3^-$ .

En tercer lugar, las tiazidas causan un aumento en la concentración plasmática de ácido úrico<sup>30</sup>. Este efecto parece ser debido a la competición de ambas sustancias por un sistema de transporte capilar  $\rightarrow$  luz tubular específico para ácidos orgánicos.

Por último, se ha sugerido que las tiazidas podrían inhibir el transporte de  $\text{Cl}^-$  en otros tejidos actuando sobre el intercambiador  $\text{Cl}^- \times \text{HCO}_3^-$ <sup>31</sup>.

Así pues, a nivel proximal las tiazidas interfieren con la reabsorción de  $\text{NaHCO}_3$  y  $\text{NaCl}$  y con la secreción de ácido úrico. El aumento en la oferta distal de  $\text{Na}^+$  tendrá, a su vez, dos efectos principales: a nivel de la mácula densa, una mayor reabsorción de  $\text{Na}^+$  aumentará la secreción de renina, la cual es responsable de la disminución del filtrado glomerular observada<sup>32</sup>, similar a la descrita con la acetazolamida. Por otro lado, a nivel distal y colector el mayor aporte de  $\text{Na}^+$  determinará un intercambio aumentando con  $\text{K}^+$  y  $\text{H}^+$ . (Ver más adelante «Túbulo distal y colector».)

En la última sección se discuten las acciones distales de las tiazidas que justifican su uso en ciertas hipercalcemias y en el tratamiento a largo plazo de la diabetes insípida nefrogénica.

### Amiloride

El amiloride es un derivado clorobenzamílico desarrollado por Merck, Sharp y Dohme en la búsqueda de un análogo no esteroideo de la aldosterona. Actúa a dos niveles distintos de la nefrona<sup>33</sup>: el intercambiador  $\text{Na}^+ \times \text{H}^+$  del túbulo proximal (\*\*\*) y el poro apical de  $\text{Na}^+$  del túbulo distal. Cinéticamente se comporta como un análogo estructural del ion  $\text{Na}^+$ , lo que explica su acción sobre dos sistemas de transporte tan distintos.

(\*) Un efecto similar de la acetazolamida sobre la anhidrasa carbónica mitocondrial ha sido mostrado por Haussiger en el hígado, donde dicho enzima es fundamental en la hidratación del  $\text{CO}_2$  procedente del ciclo de Krebs para la obtención de  $\text{HCO}_3^-$ , sustrato de la carbamilfosfato sintetasa. La acetazolamida inhibe la síntesis de urea en el hígado aislado y perfundido<sup>29</sup>.

(\*\*) En la mayoría de las células de origen animal estudiadas existe un intercambiador  $\text{Na}^+ \times \text{H}^+$  implicado en la defensa del pH intracelular que sólo se activa cuando el  $\text{pH}_i < 6,8$ . Sin embargo, la reabsorción  $\text{HCO}_3^-$  a nivel proximal renal requiere una secreción basal de protones, por lo que el  $\text{Na}^+ \times \text{H}^+$  del borde en cepillo renal es activado a  $\text{pH}_i$  fisiológicos de alrededor de 7,2. Existe, pues, la posibilidad de que en la célula proximal renal

A nivel proximal el amiloride compite con el  $\text{Na}^+$  por el sitio de este ion en el intercambiador  $\text{Na}^+ \times \text{H}^+$ . Su acción es, por tanto, apical<sup>37, 38</sup>.

El resultado de su acción es la inhibición de la reabsorción de  $\text{HCO}_3^-$  (inhibe aproximadamente el 50-60 % de la reabsorción, ya que el resto depende de la secreción activa de  $\text{H}^+$  por la bomba de protones), y, por tanto, la reducción de la reabsorción proximal de  $\text{NaCl}$ . Sin embargo, no modifica la generación proximal de bicarbonato a partir de la amoniogénesis, por lo que no contribuye en la misma manera que la acetazolamida a la generación de una acidosis metabólica. De hecho, su efecto distal sobre la reabsorción de  $\text{Na}^+$  e indirectamente sobre la secreción de protones es el determinante principal de la acidosis observada ocasionalmente con este diurético.

Desde el punto de vista energético, al inhibir parte de la entrada apical de  $\text{Na}^+$ , el amiloride debe disminuir el consumo de energía por la  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ -ATPasa. Dicha reducción, probablemente no superior a un 10 %, es probablemente compensada por el aumento de la actividad de la bomba de  $\text{H}^+$  que sigue a la acidificación del citoplasma. El resultado neto es un cambio mínimo en el requerimiento energético celular<sup>39</sup>.

Más adelante se discutirá el efecto distal del amiloride y su importancia relativa frente a los efectos proximales.

### El asa de Henle y la mácula densa: el coste energético de diluir la orina

Las dos diferencias principales en el transporte de  $\text{Na}^+$  entre el túbulo proximal y el asa de Henle son que en esta última: 1) la reabsorción de  $\text{Na}^+$  depende totalmente de la actividad de la bomba de  $\text{Na}^+$ , y 2) que dicha reabsorción se realiza sin movimiento acompañante de agua dadas las características de impermeabilidad de la membrana apical. El resultado es la formación de una orina más diluida al salir del asa ascendente, y el aumento de la tonicidad del intersticio medular renal.

La dependencia primaria y absoluta de la reabsorción de  $\text{Na}^+$  del funcionamiento de la  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ -ATPasa supone un gasto energético considerable, y la necesidad de adecuar tanto el consumo de  $\text{O}_2$  como la provisión y utilización de sustratos al enorme

trabajo de transporte activo realizado por este segmento. La extracción de  $\text{O}_2$  que este segmento lleva a cabo produce una caída de cerca de 40 mmHg en la  $\text{PO}_2$  a nivel de la médula externa<sup>40</sup>, dejando a la papila con una  $\text{PO}_2$  residual entre 10 y 20 mmHg. Ello justifica la estrecha dependencia de la función del asa ascendente del suplemento de  $\text{O}_2$  recibido, siendo la primera estructura renal cuya función se altera en situaciones de hipoxemia.

La bomba de  $\text{Na}^+$  situada en la vertiente basolateral es la fuerza motora para hacer entrar  $\text{Na}^+$  en la célula por el polo apical (fig. 5). El  $\text{Na}^+$  accede a la célula a través del cotransportador  $\text{Na}^+:\text{K}^+:2\text{Cl}^-$ . Este transportador, que es un electroneuro y sensible a furosemida, requiere de modo absoluto la presencia de los tres iones para funcionar. La entrada forzada de  $\text{Cl}^-$  acompañando al  $\text{Na}^+$  genera dentro de la célula un enorme gradiente de  $\text{Cl}^-$  que se disipará a través de vías conductivas pasivas, pero también a través de algunos sistemas de transporte recientemente descubiertos. En la membrana basolateral existe un intercambiador  $\text{Cl}^- \times \text{HCO}_3^-$  similar al descrito para el túbulo proximal<sup>41</sup>. En condiciones normales (ausencia de bicarbonato en la luz del asa) el  $\text{Cl}^-$  alcanza el espacio pericapilar a través de este transportador, contribuyendo así a la expansión del volumen extracelular. Esta forma de transporte de  $\text{Cl}^-$  es el que llevó a postular en los años setenta la existencia de una «bomba de cloro» a este nivel<sup>42</sup>. Hoy sabemos que tal bomba no existe y que la reabsorción de  $\text{Cl}^-$  es, en realidad, un transporte secundariamente activo energizado por la  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ -ATPasa.

Otro de los transportadores activados de modo terciario por el gradiente del  $\text{Cl}^-$  es el intercambiador lactato $^- \times \text{HCO}_3^-$ , recientemente descrito por nuestro grupo<sup>43</sup>. La entrada de lactato a través de la membrana basolateral del asa ascendente de Henle es dependiente de la salida de  $\text{Cl}^-$  (fig. 5): el  $\text{Cl}^-$  se intercambia por  $\text{HCO}_3^-$ , y el  $\text{HCO}_3^-$ , a su vez, por lactato. Esta disposición permite un transporte de lactato al interior de la célula utilizando el movimiento de salida de  $\text{Cl}^-$  para lograr la acumulación intracelular de lactato por encima de la concentración extracelular. (Este tipo de transporte contra gradiente es un ejemplo de transporte terciariamente activo: el motor primero es la  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ -ATPasa y el segundo el gradiente de  $\text{Cl}^-$ .) Este transportador es inhibido por furosemida y permite ajustar el lactato transportado al flujo transcelular de  $\text{Cl}^-$ , lo que asegura a la célula un aporte energético proporcional al trabajo de reabsorción de  $\text{NaCl}$  llevado a cabo<sup>43</sup>.

En el segmento más distal del asa de Henle, la mácula densa, el transporte de  $\text{Na}^+$  y  $\text{Cl}^-$  no es dependiente de  $\text{K}^+$ , pero sí es sensible a furosemida. Dada la dificultad para obtener preparaciones adecuadas de mácula densa, el hipotético transportador  $\text{Na}^+:\text{Cl}^-$  no ha podido aún ser identificado. Sin em-

coexistan dos tipos de intercambiadores  $\text{Na}^+ \times \text{H}^+$ : uno apical, continuamente activo e implicado en la reabsorción proximal de bicarbonato; otro de distribución universal, activo sólo a bajos pH. Recientemente se ha mostrado la existencia de un intercambiador  $\text{Na}^+ \times \text{H}^+$  en la membrana basolateral de la célula proximal, visible al acidificar la célula<sup>34-36</sup>. Este transportador también es sensible a amiloride.

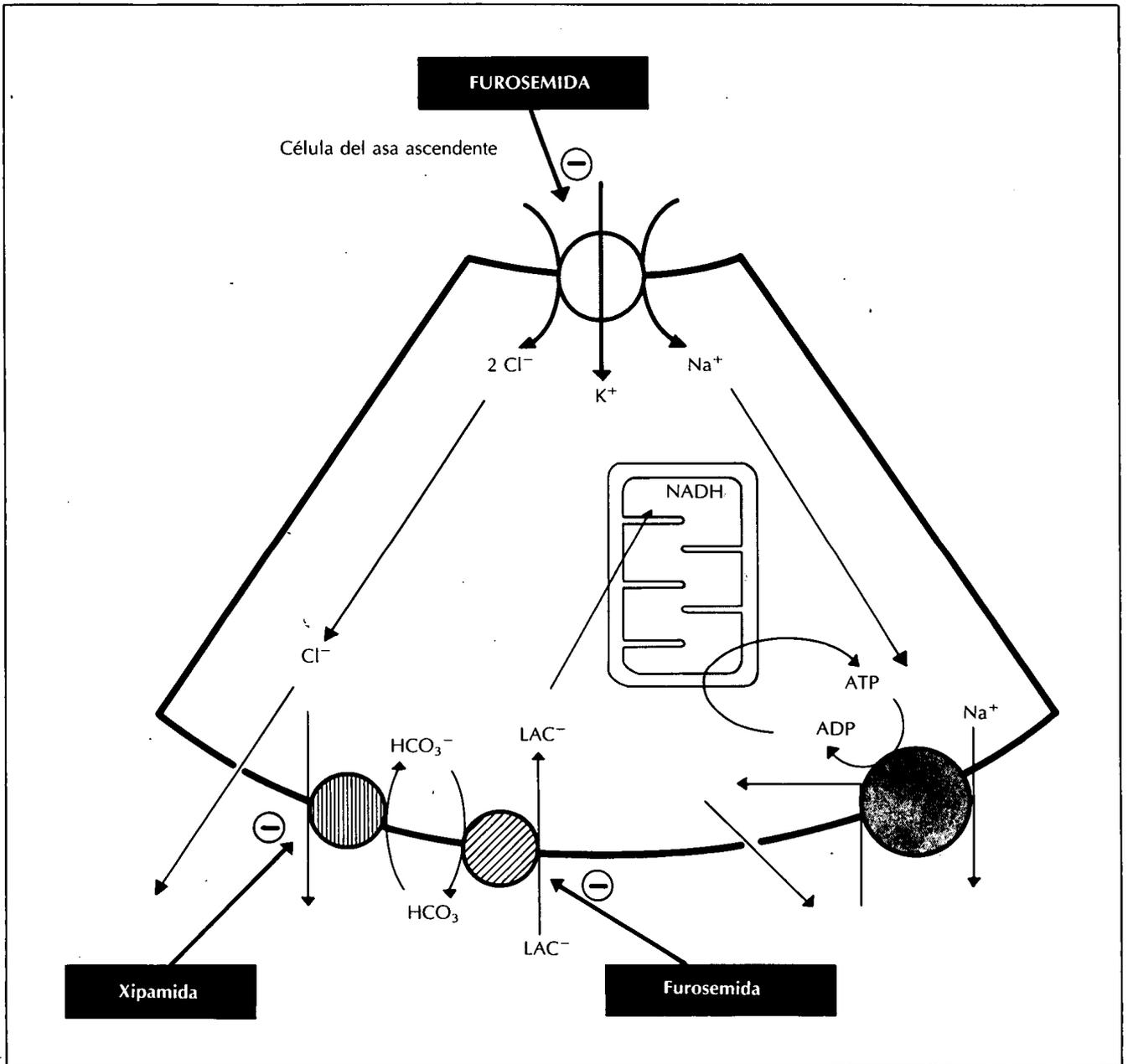


Fig. 5.—Esquema del transporte vectorial de NaCl en una célula del asa ascendente. El gradiente electroquímico generado por la bomba de Na<sup>+</sup> fuerza la entrada apical de Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup> y Cl<sup>-</sup>, creando una acumulación de Cl<sup>-</sup> dentro de la célula. Este gradiente de Cl<sup>-</sup> se disipará a través de vías conductivas o a través de transportadores específicos.

bargo, existe firme evidencia experimental de que el transporte electroneutro de NaCl a este nivel determina la síntesis y liberación de renina por el aparato yuxtglomerular<sup>44</sup>, iniciando un «feed-back» glomérulo tubular: la secreción de renina y la formación de angiotensina II correspondiente producirían una reducción en el filtrado glomerular por vasoconstricción eferente con aumento de la fracción de reabsorción proximal y disminución de la carga distal de Na<sup>+</sup>. Un problema habitual de los diuréticos que in-

hiben la reabsorción proximal de NaCl es que aumentan la cantidad de Na<sup>+</sup> que llega a la mácula densa, activando este circuito de retroalimentación que lleva inevitablemente a una reducción en el filtrado glomerular.

A continuación se describen algunos de los efectos celulares y renales de los principales diuréticos del asa: furosemida, bumetanida, ácido etacrínico, xipamida, indapamida y clopamida.

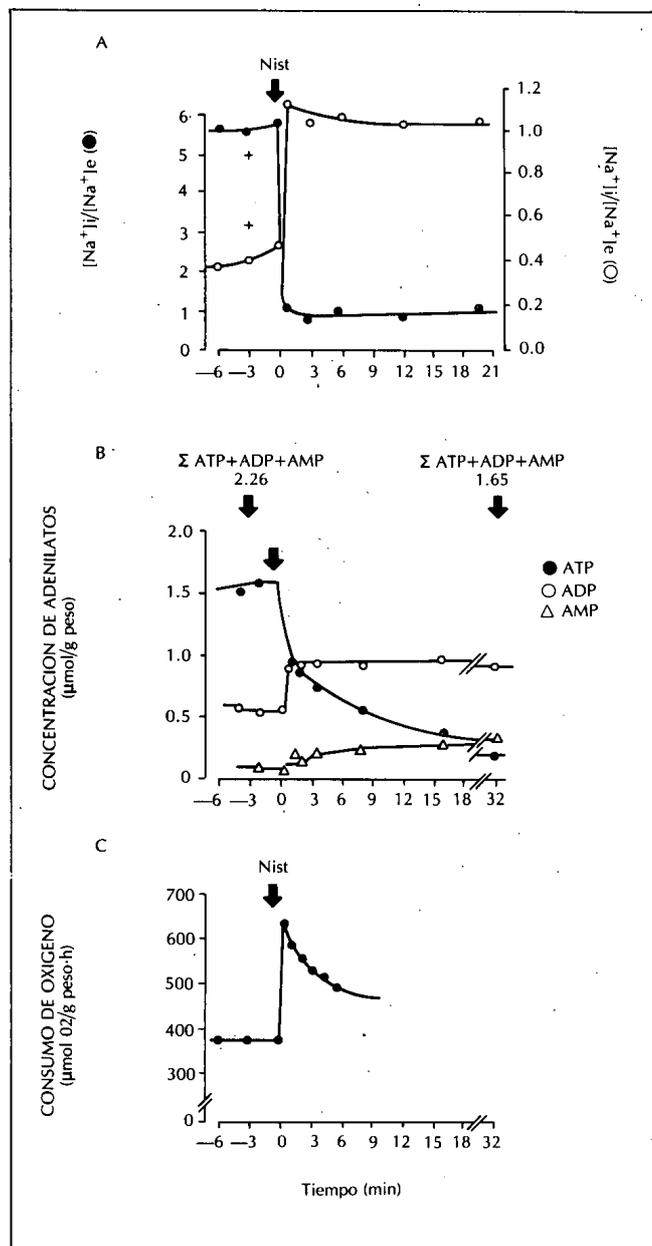


Fig. 6.—Efecto del ionóforo Nistatina sobre el recambio de ATP de túbulos renales en suspensión. Panel A: La adición de Nistatina 0,5 mM equilibra las concentraciones intra y extracelulares de  $Na^+$  y  $K^+$  en menos de un minuto ( $[cación]_i/[cación]_e = 1$ ). Panel B: La activación de la  $Na^+$ ,  $K^+$ -ATPasa por la entrada masiva de  $Na^+$  provoca el descenso progresivo de ATP con aumento del ADP y AMP. La fosforilación oxidativa no alcanza a compensar la hidrólisis del ATP. La suma de adenilatos disminuye al perderse AMP hacia metabolitos más simples (adenosina, adenina). Panel C: La adición de Nistatina aumenta bruscamente la respiración al aumentar la producción de ADP y la demanda de ATP. Pero este ritmo de respiración no puede ser mantenido más allá de unos minutos.

### Furosemida, bumetanida y ácido etacrínico

De los dos grupos de diuréticos conocidos como diuréticos del asa, el más potente, antiguo y utilizado

es el grupo de los diuréticos con grupos carboxílicos que agrupan, a su vez, a dos familias de fármacos: los sulfamilo derivados del ácido fenoxiacético como el ácido etacrínico o los aún en desarrollo indacrina y MK-473<sup>45</sup>. A bajas concentraciones, furosemida, bumetanida y ácido etacrínico compiten con el sitio aniónico del cotransportador  $Na^+/K^+/2Cl^-$  presente en el polo apical del asa de Henle<sup>46</sup>. Como dicho transportador requiere la presencia de los tres iones ( $Na^+$ ,  $K^+$  y  $Cl^-$ ) para funcionar, estos diuréticos causan una muy efectiva inhibición del transporte de  $Na^+$  en este segmento. La furosemida es, asimismo, capaz de inhibir el transporte de  $Na^+$  y  $Cl^-$  ( $K^+$  independiente) a nivel de la mácula densa. Aunque el sitio de acción en ambos casos es luminal, se ha podido comprobar que tanto la furosemida como el ácido etacrínico son capaces de inhibir el transporte incluso cuando se añaden a la vertiente basolateral del asa<sup>47, 48</sup>, lo que implica que ambos son secretados a la luz del túbulo, y justifica su actividad aún en presencia de reducciones importantes del filtrado glomerular.

A altas concentraciones, sin embargo, estos fármacos se comportan como agentes reactivos de grupos sulfidrilos, por lo que pueden interferir con todas aquellas proteínas en las que dichos grupos jueguen un papel funcional importante. Así es común la interferencia con proteínas transportadoras de membrana que requieren cambios conformacionales para su función. Concentraciones de furosemida superiores a 1mM pueden inhibir la  $Na^+$ ,  $K^+$ -ATPasa y la fosforilación oxidativa mitocondrial.

A diferencia de lo observado con el amiloride o la acetazolamida en el tubo proximal, la acción de la furosemida va a tener profundas repercusiones sobre el metabolismo energético del asa de Henle<sup>21, 43</sup>. Como puede verse en la figura 4 B, el 59 % del consumo de  $O_2$  por el asa de Henle es ouabaína sensible, esto es, se destina al transporte activo de  $Na^+$  a través de la  $Na^+$ ,  $K^+$ -ATPasa. La furosemida inhibe cerca del 90 % de dicho transporte, indicando que la inmensa mayoría del  $Na^+$  que es activamente extruido por la bomba de  $Na^+$  entró en la célula a través del cotransporte apical  $Na^+/K^+/2Cl^-$ . La furosemida es capaz de reducir de modo considerable la principal demanda de  $O_2$  del asa de Henle. Este efecto justifica parcialmente la antigua indicación de usar furosemida intraoperatoriamente en el trasplante renal, o como «profilaxis» o «protección» en el fracaso renal agudo; en dichas situaciones, y como consecuencia de la hipotermia o de la isquemia, hay un aumento de la permeabilidad al  $Na^+$ , probablemente una disminución de la actividad de la bomba de  $Na^+$  y un aumento del  $Na^+$  y del  $Ca^{++}$  intracelulares. Este efecto tiende a ser mayor en el asa de Henle por ser más dependiente del aporte de  $O_2$ . Cuando la célula recupera su actividad, la alta ( $Na$ )<sub>i</sub> determina

una activación de la bomba que puede ser deletérea. En la figura 6 se muestra una serie de experimentos<sup>21</sup> sobre túbulos aislados en los que se aumentó la permeabilidad al  $\text{Na}^+$  de modo artificial con un ionóforo para  $\text{Na}^+$  (nistatina). Como puede verse en el panel A, el  $\text{Na}^+$  aumenta y el  $\text{K}^+$  disminuye de modo brusco hasta equilibrarse con el medio extracelular. En el panel C puede verse el brusco aumento del consumo de  $\text{O}_2$  debido a la activación de la bomba. Sin embargo, la respiración comienza a disminuir a los pocos minutos pese a que la concentración intracelular de  $\text{Na}^+$  no ha variado. Ello obedece a dos razones. Por un lado, en ausencia de gradientes de  $\text{Na}^+$  y  $\text{Cl}^-$  los sistemas de transporte de sustratos no funcionan, y éstos entran en la célula por simple difusión, pudiendo ser limitantes para la oxidación. Por otro lado, la velocidad de degradación del ATP es mayor que la de síntesis, como puede verse en el panel B. Tras la activación de la bomba, el ATP cae progresivamente, al tiempo que aumentan el ADP y el AMP. Esta situación persiste mientras dura la acción del ionóforo. Estos datos muestran por vez primera que la máxima de síntesis de ATP por dicha célula, y que dado que la oxidación mitocondrial a tal ritmo no parece poder mantenerse más allá de unos minutos, el transporte masivo de  $\text{Na}^+$  en una célula con las bombas de  $\text{Na}^+$  funcionantes es un proceso potencialmente letal que depleciona a la célula de ATP en cuestión de minutos. A nivel del asa de Henle la furosemida disminuye el transporte de  $\text{Na}^+$ , disminuyendo el consumo de  $\text{O}_2$  (ver fig. 4 B). Este efecto, que es probablemente de utilidad en situaciones de compromiso metabólico para el riñón, debe de ser visto con cautela, ya que, como se ha mencionado previamente, dosis más altas de furosemida pueden dañar de modo inespecífico la fosforilación oxidativa.

Un segundo efecto de la furosemida, hoy parcialmente dilucidado, es su acción perturbadora sobre el «feed-back» glomérulo-tubular. Cuando el transporte de  $\text{NaCl}$  aumenta a nivel de la mácula densa se desencadena un mensaje de «alerta de pérdida de sal» que es contrarregulado («feed-back») por el aumento de renina, angiotensina II y aldosterona: la angiotensina II aumenta la reabsorción proximal y la aldosterona la reabsorción distal de  $\text{Na}^+$ .

La furosemida inhibe el transporte de  $\text{NaCl}$  en la mácula densa y rompe el «feed-back» glomérulo-tubular, evitando la activación de la secreción de renina y la disminución del filtrado glomerular<sup>49</sup>. Este efecto es tanto mayor cuanto mayor es la estimulación previa del eje renina-angiotensina-aldosterona (por ejemplo, en la cirrosis) y es antagonizado por indometacina.

Por último, la interrupción del «feed-back» glomérulo tubular probablemente justifica la observada redistribución del flujo de las nefronas yuxtamedulares

a las corticales en presencia de furosemida. En efecto, en las situaciones de reducción del volumen plasmático efectivo (insuficiencia cardíaca, cirrosis, síndrome nefrótico...) en las que existe una secreción de renina aumentada por el aumento del tono simpático, las nefronas más superficiales, de asa de Henle corta, tienen mayor carga distal de  $\text{NaCl}$  que las yuxtglomerulares, de asa de Henle más larga. El «feed-back» glomérulo-tubular es mayor en las nefronas superficiales, en las que tiende a existir una mayor reducción de la filtración, dirigiéndose el flujo sanguíneo a las profundas, donde la baja carga de  $\text{NaCl}$  que abandona el asa de Henle no activa la mácula densa. Al añadir furosemida, el transporte de  $\text{NaCl}$  es inhibido en todas las máculas densas, con lo que se produce un aumento de flujo que es proporcionalmente mayor en las nefronas superficiales.

#### *Xipamida, indapamida, clopamida*

El segundo grupo de diuréticos del asa está constituido por fármacos menos conocidos de reciente introducción, algunos aún en fase experimental. A diferencia de los diuréticos de asa clásicos, ninguno de ellos tiene grupos carboxilo<sup>46</sup>. En segundo lugar, todos ellos ejercen menos potencia diurética y natriurética que la furosemida. Por último, parece que en todos ellos el mecanismo de inhibición de la reabsorción de  $\text{Na}^+$  no es la interferencia con el cotransporte  $\text{Na}^+:\text{K}^+:2\text{Cl}^-$ , sino con el intercambiador aniónico  $\text{Cl}^- \times \text{HCO}_3^-$  ya mencionado. La xipamida parece ser el inhibidor más potente de dicho transportador<sup>46</sup>.

Sin embargo, en las situaciones en las que por diversos motivos existe una fuga de bicarbonato proximal (acidosis tubular proximal con reposición de  $\text{HCO}_3^-$ , administración de acetazolamida, hiperparatiroidismo...) el asa de Henle se convierte en un segmento recuperador de bicarbonato<sup>50</sup> gracias a la existencia de intercambiadores  $\text{Na}^+ \times \text{H}^+$ <sup>51</sup>. En estas circunstancias el intercambiador  $\text{Cl}^- \times \text{HCO}_3^-$  basolateral probablemente funcione en reverso, en cuyo caso el  $\text{Cl}^-$  seguiría rutas conductivas alternativas para salir de la célula (fig. 5) y la reabsorción de  $\text{NaCl}$  no dependería de la actividad del intercambiador  $\text{Cl}^- \times \text{HCO}_3^-$ . Así pues, es razonable pensar que determinadas asociaciones farmacológicas o situaciones fisiopatológicas puedan interferir de modo notable con la potencia diurética de este grupo de fármacos.

Por último, conviene señalar que en muchos de los fármacos de este grupo la actividad diurética se acompaña de una cierta capacidad como agentes vasodilatadores<sup>52</sup>. Este efecto, que no es discutido aquí, forma parte de su indicación en estados hipertenso.

### Túbulo distal y colector: la importancia de la aldosterona

La reabsorción de  $\text{Na}^+$  a nivel de túbulo distal y colector cortical obedece al mismo esquema general visto en segmentos anteriores: un transporte activo basolateral llevado a cabo por la  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ -ATPasa, y un transportador apical de  $\text{Na}^+$  que permite el transporte facilitado de  $\text{Na}^+$  desde la luz al interior de la célula. Pero en estos segmentos tanto los transportadores apicales como los basolaterales presentan la notable peculiaridad de ser regulados por la aldosterona a nivel transcripcional y postranscripcional, lo que permite un ajuste exquisito y una dependencia casi absoluta de estos segmentos del estado del volumen extracelular del organismo.

La aldosterona es una hormona con dos funciones: defender al organismo contra la hipovolemia y contra la hiperpotasemia. Es estimulada por la angiotensina II<sup>53</sup> y por la elevación del  $\text{K}^+$  plasmático, así como, de modo menos específico, por la ACTH. Existen receptores a la aldosterona en riñón, colon, paratiroides, hipocampo, corazón y árbol vascular<sup>54</sup>. La acción de la aldosterona a nivel del colon<sup>55</sup> tiene una importancia notable en la hiperpotasemia de la insuficiencia renal avanzada. En esta circunstancia existe una secreción aumentada de aldosterona. Si bien sus efectos a nivel renal pueden ser insignificantes debido a la propia insuficiencia renal, no ocurre lo mismo a nivel del intestino grueso, donde es capaz de estimular la secreción de  $\text{K}^+$ . El uso de quelantes del  $\text{K}^+$  administrados por vía rectal es en tal situación de particular utilidad para reducir el capital corporal de  $\text{K}^+$ . Por otro lado, la constipación en estos pacientes puede desencadenar la aparición de hiperpotasemias tóxicas sin que existan cambios apreciables en la ingesta habitual de  $\text{K}^+$ .

A nivel renal se han descrito clásicamente dos tipos de receptores esteroideos: el tipo I para mineralocorticoides, y el tipo II para glucocorticoides. El receptor tipo I está ausente o muy reducido en los pacientes con pseudohipoaldosteronismo<sup>56</sup>, confirmando su correlación directa con la acción de la aldosterona (\*\*\*) . Sin embargo, el análisis cinético de la unión de la aldosterona a sus órganos diana muestra la existencia de dos sitios de unión<sup>57</sup>: uno de alta afinidad y baja capacidad, habitualmente considerado como el verdadero receptor de aldosterona (tipo I), y otro de baja afinidad y gran capacidad, probablemente correspondiente al receptor glucocorticoideo (tipo II). Geering ha mostrado<sup>58</sup> que la ocu-

pación de ambos receptores es necesaria para obtener la respuesta completa a la aldosterona *in vivo*.

En la tabla I puede verse que el tipo I es menos abundante y requiere menos concentración de aldosterona para funcionar que el tipo II, y que cuando el receptor tipo II está ocupado, siempre lo está también el receptor I ya que la afinidad por la aldosterona de este último es mayor. El receptor I no diferencia aldosterona de cortisol o corticosterona<sup>59, 60</sup>, pero rechaza otros esteroideos como la cortisona. Su especificidad *in vivo* por la aldosterona se debe a la cercanía de dos enzimas: la 17  $\alpha$  hidroxilasa y la 11  $\beta$  hidroxideshidrogenasa, capaces de degradar, respectivamente, la corticosterona y el cortisol a cortisona<sup>54</sup>. El número de receptores tipo I aumenta con las dietas con alto contenido en  $\text{K}^+$ <sup>61</sup>. La ocupación de este receptor tipo I induce la inserción de canales de  $\text{Na}^+$  y de canales  $\text{K}^+$  en la membrana apical y un cambio estructural en las uniones estrechas del epitelio, provocando un aumento rápido (entre quince minutos y dos horas) de la permeabilidad al  $\text{Na}^+$ . A nivel celular hay un aumento en la entrada apical de  $\text{Na}^+$  y en la salida de  $\text{K}^+$  que conlleva la activación de la  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ -ATPasa basolateral<sup>58</sup>.

Cuando los receptores tipo II son también ocupados, esta respuesta temprana es seguida por un respuesta tardía (de seis a doce horas)<sup>58, 62</sup> durante la cual la aldosterona es capaz de inducir, reprimir o modificar la síntesis de hasta 100 proteínas, de las que no más de cinco han sido identificadas<sup>63</sup>. Entre ellas aumenta la síntesis de la  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ -ATPasa, de la citrato sintetasa y probablemente de la bomba de protones distal, la  $\text{K}^+$ ,  $\text{H}^+$ -ATPasa<sup>64</sup>. Esta acción tardía por ocupación de los receptores tipo II requiere la ocupación previa de los receptores tipo I de alta afinidad<sup>58</sup>.

Cuando el  $\text{Na}^+$  abandona el segmento dilutor y llega al último segmento del túbulo distal (segmento conector y túbulo colector cortical), el gradiente electroquímico de la  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ -ATPasa arrastra  $\text{Na}^+$  al interior de la célula a través del canal apical de  $\text{Na}^+$ . Dado que la permeabilidad de la membrana a los aniones acompañantes es menor, este movimiento de  $\text{Na}^+$  genera una diferencia de potencial negativa en la luz del túbulo que provoca la salida de  $\text{K}^+$  a través del canal de  $\text{K}^+$  apical y favorece el bombeo activo

**Tabla I.** Receptores renales a la aldosterona<sup>54, 57, 58</sup>

	Tipo I	Tipo II
Kd (nM) .....	0,5-3	20-60
Binding max (fmol/mg prot) .....	50	500
Receptores/célula .....	100	1.000-1.000.000

(\*\*\*) En las situaciones de hiperaldosteronismo primario (pero no en el hiperaldosteronismo sensible a dexametasona) se produce una «down-regulation» de los receptores a aldosterona tipo I<sup>65</sup>. Este proceso probablemente contribuye al fenómeno de escape aldosterónico observado en tales situaciones.

de  $H^+$  a la luz del túbulo por la bomba de  $H^+$  (\*\*\*\*). Los tres procesos son activados por la aldosterona.

La presencia de aniones no reabsorbibles (citrato) en la luz, al no difundir tras el  $Na^+$ , determinan la generación de una diferencia de potencial enorme para movimientos mínimos de  $Na^+$ , disminuyendo la reabsorción de  $Na^+$  y promoviendo la secreción de  $K^+$  y  $H^+$ . La existencia de aniones no reabsorbibles debe de ser tenida en consideración cuando existe potasiuria importante pese a la utilización de diuréticos ahorradores de  $K^+$ .

Es interesante hacer notar que los diuréticos distales, especialmente espironolactona, triamterene y amiloride, tienden a producir un efecto sobre el equilibrio ácido-básico opuesto al observado con los diuréticos proximales. Estos al inhibir la reabsorción proximal de  $Na^+$  aumentan la carga distal de este ion, el cual, a su paso por el túbulo distal, arrastra  $K^+$  y  $H^+$ . En esta situación tienen lugar tres efectos: 1) reducción del VEC, con activación de la secreción de renina y angiotensina II, la cual estimula la actividad del intercambiador  $Na^+ \times H^+$ , aumentando la reabsorción proximal de  $HCO_3^-$ ; 2) aumento de la generación distal de  $HCO_3^-$  por la pérdida de  $H^+$ , y 3) reducción en el capital de  $K^+$ , que tiende a estimular la amoniogénesis, aumentando la generación proximal de  $HCO_3^-$ . Estos tres fenómenos configuran el concepto de «alcalosis de contracción» que manejamos en la clínica diaria (la excepción a esta regla es la acetazolamida, que, como queda mencionado, interfiere con la reabsorción de  $HCO_3^-$  y con la amoniogénesis proximales). Por el contrario, los diuréticos que impiden la reabsorción distal de  $Na^+$  interfieren con el desarrollo de un PD negativo a nivel distal, con lo que  $K^+$  y  $H^+$  son «ahorrados». La menor eliminación de  $H^+$  tiende a generar una acidosis que normalmente es compensada por el túbulo proximal (generación de  $HCO_3^-$  por la amoniogénesis, aumento de reabsorción de  $HCO_3^-$  secundaria a la reducción del VEC). Sin embargo, si el  $K^+$  se eleva puede haber una inhibición de la amoniogénesis, apareciendo acidosis sistémica pese a existir una situación de «contracción» del VEC.

### Espironolactona

La espironolactona compite con la aldosterona por ambos tipos de receptores I y II<sup>61</sup>, a los que accede

(\*\*\*\*) En el momento de escribir este artículo aún no existe unanimidad acerca de la naturaleza de la bomba distal de  $H^+$ . La opinión más extendida es la de que se trata de una  $H^+$ -ATPasa vanadato insensible similar a la de las vesículas «clathrin-coated» subapicales proximales<sup>66, 67</sup>. Por otro lado, existen reportes recientes de que podría tratarse de una  $K^+$ ,  $H^+$ -ATPasa electroneutra<sup>68</sup> sensible al vanadato y al omeprazol y similar a la del estómago. Sin embargo, esta última no justificaría la dependencia del PD mostrada por la secreción de  $H^+$  *in vivo*.

desde la vertiente basal de la célula. De su acción se deriva la reducción en la síntesis de  $Na^+$ ,  $K^+$ -ATPasa y de algunos enzimas del ciclo de Krebs, como la citrato sintetasa. El resultado global es una disminución del metabolismo aerobio y del recambio de ATP, así como de la secreción de  $H^+$  y  $K^+$  a la luz. Puede producirse hiperpotasemia y acidosis, si bien esta última es excepcional.

### Amiloride y triamterene

La acción diurética del amiloride a nivel del túbulo distal y colector cortical se basa en la inhibición del canal apical de  $Na^+$ . El triamterene inhibe también el canal de  $Na^+$ , si bien con una menor afinidad<sup>69</sup>. Las características de este canal en el túbulo colector de rata han sido revisadas recientemente<sup>33</sup>. Tiene una conductancia en condiciones fisiológicas de  $5 \times 10^{-6}$  micro Siemens, lo que significa que cuando está abierto permite una transferencia neta de más de 1.000.000 iones de  $Na^+$  por segundo. Comparativamente, el intercambiador  $Na^+ \times H^+$  proximal bombea 2.500 iones de  $Na^+$  por segundo. Cada 3-4 segundos el canal se abre y permanece abierto unos tres o cuatro segundos. El amiloride altera este ritmo, acelerándolo y disminuyendo el tiempo total de apertura. A diferencia de los canales de  $Na^+$  de los tejidos excitables, el canal de  $Na^+$  renal no es sensible a tetrodotoxina, y, además, presenta una característica totalmente inusual para un canal: se satura a concentraciones de  $Na^+$  crecientes<sup>33, 70</sup>. Por último, presenta reactividad inmunológica cruzada con la subunidad alfa de la  $Na^+$ ,  $K^+$ -ATPasa<sup>54</sup>, lo que apunta hacia una estructura común en la Naturaleza para los elementos transportadores de  $Na^+$ , y justifica la observada inhibición del amiloride sobre el canal de  $Na^+$  distal, el intercambiador  $Na^+ \times H^+$  proximal, el intercambiador  $Na^+ \times H^+$  extrarrenal y la  $Na^+$ ,  $K^+$ -ATPasa.

La acción diurética del amiloride viene marcada por la sensibilidad diferente de cada una de esas estructuras al fármaco. La  $D_{50}$  (dosis necesaria para reducir a la mitad la actividad de un transportador) del amiloride para el canal de  $Na^+$  es de 70 nM<sup>33, 71</sup>; de 2 a 5  $\mu M$  para el intercambiador  $Na^+ \times H^+$  de células no renales<sup>33</sup>; 24  $\mu M$  para el intercambiador  $Na^+ \times H^+$  renal proximal<sup>33, 38</sup> y en el rango milimolar para la  $Na^+$ ,  $K^+$ -ATPasa.

El efecto del amiloride sobre el manejo distal de  $Na^+$  es simple: al inhibir la actividad del canal de  $Na^+$  reduce la transferencia neta de  $Na^+$  desde la luz hacia la célula impidiendo el desarrollo de un potencial negativo en la luz del túbulo. Ello tiende a reducir la secreción de  $K^+$  y  $H^+$ . De ahí que pese a su acción sobre el intercambiador  $Na^+ \times H^+$  proximal ya comentada, y que determina un aumento en la carga distal de  $Na^+$ , no se produzca la kaliuresis observada con otros diuréticos proximales. En cambio,

existe una tendencia a la acidosis que puede ser más notable que con la espironolactona ya que el mecanismo proximal de reabsorción de  $\text{HCO}_3^-$  puede estar afectado.

A nivel periférico la inhibición del intercambiador  $\text{Na}^+ \times \text{H}^+$  extrarrenal interfiere con la normal defensa del  $\text{pH}_i$ , con lo que existe una facilitación para la acidosis intracelular que puede llevar consigo un desplazamiento de  $\text{K}^+$  del interior de la célula al espacio extracelular. Este mecanismo se añadiría a su acción distal a la hora de elevar el  $\text{K}^+$  plasmático.

Los niveles necesarios para inhibir la  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ -ATPasa no son jamás alcanzados *in vivo*. Con la dosificación habitual de amiloride el efecto observado es casi exclusivamente el distal.

#### Tiazidas, metolazona y ácido tienílico

Las tiazidas, que a nivel proximal, inhiben la anhidrasa carbónica, inhiben la reabsorción de  $\text{Cl}^-$  en el segmento dilutor cortical y en el túbulo distal inicial<sup>72</sup>. Este efecto, ausente en diuréticos del grupo de la acetazolamida, determina la pérdida de  $\text{Cl}^-$  por orina<sup>73</sup>, aumentando su eficacia diurética y reduciendo la generación de la acidosis hiperclorémica típica de los inhibidores de la anhidrasa carbónica.

En segundo lugar tanto las tiazidas como el ácido tienílico, un derivado del ácido fenoxiacético similar al ácido etacrínico, inhiben la reabsorción distal de  $\text{Na}^+$  sin cambios en el voltaje transepitelial, lo que sugiere la inhibición de un transportador  $\text{Na}^+:\text{Cl}^-$ , distinto del canal de  $\text{Na}^+$  y probablemente similar al transportador de la mácula densa, que no ha sido aún identificado a nivel molecular.

En tercer lugar, las tiazidas determinan un aumento en la reabsorción distal del calcio, fenómeno ampliamente reconocido<sup>32, 74</sup> y utilizado en ciertas hipercalciurias de «escape» para reducir la concentración de calcio en el túbulo y el riesgo de nefrocalcinosis. Aunque varios modelos han sido propuestos para explicar este efecto<sup>75-77</sup>, el mecanismo exacto sigue sin ser dilucidado. Desde hace un año existen evidencias de que la presencia de  $\text{HCO}_3^-$  en la luz estimula la reabsorción activa del calcio<sup>78</sup> (\*\*\*\*). Las tiazidas interfieren con la reabsorción de  $\text{HCO}_3^-$ , pero no existen aún estudios relacionando ambos hallazgos.

Por último, la inhibición ya mencionada en párrafos anteriores de las tiazidas sobre la AMP-fosfodieste-

terasa determina un aumento de AMPc a nivel colector<sup>28</sup>. A dicho nivel la principal hormona estimuladora de la vía  $\text{G}\alpha_s \rightarrow$  adenilato ciclasa  $\rightarrow$  AMPc es la ADH. Así pues, el aumento de AMPc generado por las tiazidas que tenía a nivel proximal un efecto «PTH-like» tiene un efecto «ADH-like» a nivel distal. Este efecto hace de las tiazidas un arma terapéutica eficaz en el tratamiento de las diabetes insípidas por resistencia periférica a la acción de la hormona. El litio, otro agente utilizado en el tratamiento crónico de la diabetes insípida nefrogénica, también inhibe la formación de AMPc a nivel distal<sup>79</sup>.

La metolazona es un diurético del grupo de las tiazidas que, pese a no haber sido aprobado hasta el momento su uso en España, merece algún comentario. Aunque aún no se conoce su mecanismo íntimo de acción, inhibe la reabsorción de  $\text{NaCl}$  en el túbulo distal y promueve la pérdida de  $\text{K}^+$ . Es, junto con la furosemida, uno de los pocos diuréticos útiles en la insuficiencia renal con disminución importante del filtrado, ya que su inhibición del transporte de  $\text{NaCl}$  se hace desde la vertiente basolateral, no requiriendo filtración ni secreción para ser activo<sup>80</sup>. Por otro lado, la metolazona es secretada a la luz del túbulo distal a través de transportadores probenecid sensibles, y su presencia en la luz es la responsable del efecto kaliurético<sup>80</sup>.

#### Sumario

En resumen, los mecanismos de acción de la mayoría de los diuréticos son complejos y no están limitados, salvo excepciones, a un solo segmento de la nefrona, o a un solo mecanismo de acción. Es importante recordar que las acciones a nivel proximal van a tener repercusiones importantes a nivel distal, tanto sobre la mácula densa y la secreción de renina como sobre los segmentos dependientes de aldosterona. Asimismo es importante no olvidar que en el caso de algunos diuréticos el nivel plasmático, y, por tanto, la dosis, puede tener una importancia crítica sobre el sistema o sistemas afectados, y que en ocasiones dosis demasiado elevadas pueden tener efectos opuestos a los esperados. Los últimos cuatro años nos han permitido vislumbrar la profunda e intrincada relación existente entre la acción de los diuréticos, el manejo tubular de  $\text{Na}^+$  y  $\text{H}_2\text{O}$ , la regulación hormonal de los principales transportadores y el metabolismo energético renal.

#### Bibliografía

1. Strauss MB, Lamdin E, Smith WP y Bleifer DJ: Surfeit and deficit of sodium: A kinetic concept of sodium excretion. *Arch Intern Med* 102:527-536, 1958.
2. Gyory AZ, Brendel V y Kinnet R: Effect of cardiac glycosides

(\*\*\*\*) De confirmarse que la presencia de  $\text{HCO}_3^-$  en la luz del túbulo distal estimula la reabsorción de calcio, ello podría explicar por qué algunas acidosis producen nefrocalcinosis y otras no. En la acidosis tubular proximal, la presencia de  $\text{HCO}_3^-$  a nivel distal aumentaría la reabsorción de calcio y evitaría su precipitación. En cambio, en la acidosis tubular distal o en acidosis metabólicas crónicas en las que hay aumento en la reabsorción proximal de  $\text{HCO}_3^-$  sería posible observar el desarrollo de nefrocalcinosis.

- and sodium ethacrynate on transepithelial sodium transport *in vivo* micropuncture experiments and on isolated plasma membrane  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ -ATPase *in vitro* of the rat. *Pflügers Arch* 335:287, 1972.
3. Maddox DA, Deen WM y Gennari FJ: Control of bicarbonate and fluid reabsorption in the proximal convoluted tubule. *Seminars in Nephrology* 7:72-81, 1987.
  4. Preisig PA, Ives HE, Cragoe EJ, Jr, Alpern RJ y Rector FC, Jr: The role of the sodium proton antiporter in rat proximal tubule bicarbonate absorption. *J Clin Invest* (en prensa), 1989.
  5. Bank N, Aynedjian HS y Mutz BF: Evidence for a DCCD-sensitive component of proximal bicarbonate reabsorption. *Am J Physiol* 249:F636-F644, 1985.
  6. Rector FC, Jr: Sodium, bicarbonate and chloride reabsorption in the proximal tubule. *Am J Physiol* 244:F461-F471, 1983.
  7. Alpern RJ, Warnock DG y Rector FC, Jr: Renal acidification mechanisms. En BM Brenner y FC Rector, Jr (Eds.): *The Kidney* (3th ed). Philadelphia, Saunders, 206-249, 1986.
  8. Alpern RJ: Mechanism of basolateral membrane  $\text{H}^+/\text{OH}^-/\text{HCO}_3^-$  transport in the rat proximal convoluted tubule: A sodium coupled electrogenic process. *J Gen Physiol* 86:613-636, 1985.
  9. Grassl SM, Karniski LP y Aronson PS:  $\text{Cl}^-/\text{HCO}_3^-$  exchange in rabbit renal cortical basolateral membrane vesicles (BCMV). *Kidney Int* 27:282(a), 1985.
  10. Neumann KH y Rector FC, Jr: Mechanism of  $\text{Na}^+/\text{Cl}^-$  and water reabsorption in the proximal convoluted tubule of rat kidney: Role of chloride concentration gradients. *J Clin Invest* 58:1110-1118, 1976.
  11. Chantrelle BM, Cogan MG y Rector FC, Jr: Active and passive components of  $\text{Na}^+/\text{Cl}^-$  reabsorption in the proximal convoluted tubule of the rat kidney. *Miner Electrolyte Metab* 11:209-214, 1985.
  12. Alpern RJ, Howlin KJ y Preisig PA: Active and passive components of chloride transport in the rat proximal convoluted tubule. *J Clin Invest* 76:1360-1366, 1985.
  13. Karniski LP y Aronson PS: Chloride/formate exchange with formic acid recycling: a mechanism of active chloride transport across epithelial membranes. *Proc Nat Acad Sci USA* 82:6362-6365, 1985.
  14. Seifter JL, Skorecki KJ, Stivelman JC, Hauptert G y Brenner BM: Control of extracellular fluid volume and pathophysiology of edema formation. En BM Brenner y FC Rector, Jr (Eds.): *The Kidney* (3th ed). Philadelphia, Saunders, 343-384, 1986.
  15. Winman EJ, Dubinsky WP y Shenolikar S: Reconstitution of cAMP-dependent protein kinase regulated renal  $\text{Na}^+/\text{H}^+$  exchanger. *J Membrane Biol* 101:11-18, 1988.
  16. Domínguez JH, Shuler F, Olszowy MW, Brown T y Puschett JB: Prostaglandin  $\text{E}_2$  is an inhibitor of adenylate cyclase in rabbit proximal tubule. *Am J Physiol* 254:C304-C309, 1988.
  17. Nord EP, Howard MJ, Hafezi A, Moradeshagi P, Vaystub S y Insel PA: Alpha-2 adrenergic agonists stimulate  $\text{Na}^+/\text{H}^+$  antiport activity in the rabbit renal proximal tubule. *J Clin Invest* 80:1755-1762, 1987.
  18. Moe O, Tejedor A, Levi M, Seldin D, Preisig P y Alpern R: Decreased dietary  $\text{NaCl}$  increases  $\text{Na}^+/\text{H}^+$  antiporter in rat cortical brush border membranes. *J Clin Invest* (en prensa), 1989.
  19. Wodcock EA y Johnston CI: Inhibition of adenylate cyclase by angiotensin II in rat renal cortex. *Endocrinology* 111:1687-1691, 1982.
  20. Douglas JG: Subpressor infusions of angiotensin II alter glomerular binding, prostaglandin  $\text{E}_2$ , and cyclic AMP production. *Hypertension* Vol 9, Supl. III, III-49/III-56, 1987.
  21. Tejedor A, Noel J, Vinay P, Boulanger Y y Gougoux A: Characterization and metabolism of canine proximal, thick ascending limbs and collecting ducts tubules in suspension. *Canadian Journal of Physiology and Pharmacology* 66:997-1009, 1988.
  22. Maren TH: Carbonic anhydrase: chemistry, physiology and inhibition. *Physiol Rev* 47:595-781, 1967.
  23. Senev FD, Jr: Feedback regulation of GFR during glomerular hyperfiltration. En *The Juxtaglomerular Apparatus*. AEG, Persson y U Boberg (editors). Elsevier Science Publishers (Biomedical Division), 323-331, 1988.
  24. Gougoux A, Vinay P, Zizian L, Tejedor A y Noel J: Effect of acetazolamide on renal metabolism and ammoniogenesis in the dog. *Kidney Int* 31:1279-1290, 1987.
  25. Brosnan JT, Lowry M, Vinay P, Gougoux A y Halperin ML: Renal ammonium production: une vue canadienne. *Can J Physiol Pharmacol* 65:489-498, 1987.
  26. Dogson SJ, Forster II RE, Storey BT y Mela L: Mitochondrial carbonic anhydrase. *Proc Natl Acad Sci USA* 77:5562-5566, 1980.
  27. Materson BJ: Insights into intrarenal sites and mechanisms of action of diuretic agents. *Am Heart J* 106:188-208, 1983.
  28. Seufft G y Schultz G: The influence of hydrochlorothiazide and other sulfamyl diuretics on the activity of 3'-5'-AMP phosphodiesterase in rat kidney. *Arch Exp Pathol Pharmacol* 255:342-359, 1968.
  29. Haussinger DW y Gerok W: Hepatic urea synthesis and pH regulation: Role of  $\text{CO}_2$ ,  $\text{HCO}_3^-$ , pH and the activity of carbonic anhydrase. *Europ J Biochem* 152:381-386, 1985.
  30. Laragh JH, Heinemann HO y Dermatini FE: Effect of chlorothiazide on electrolyte transport in man. *JAMA* 166:145-152, 1958.
  31. Ferriola PC, Acara MA y Duffley ME: Thiazide diuretics inhibits inhibit chloride absorption by rabbit distal colon. *J Pharmacol Exp Ther* 238:912-915, 1986.
  32. Villareal H, Revollo A, Exaire JE y Larrondo F: Effects of chlorothiazide on renal hemodynamics. *Circulation* 26:409-412, 1962.
  33. Frelin C, Vigne P, Barbry P y Lazdunski M: Molecular properties of amiloride action and of its  $\text{Na}^+$  transporting targets. *Kidney Int* 32:785-793, 1987.
  34. Boron WF y Boulpaep EL: Intracellular pH regulation in the renal proximal tubule of the salamander  $\text{Na}^+/\text{H}^+$  exchange. *J Gen Physiol* 81:29-52, 1983.
  35. Geibel J, Giebisch G y Boron WF:  $\text{Na}^+$ -dependent, basolateral acid-base transport in superficial and juxtamedullary rabbit proximal  $\text{S}_1$ ,  $\text{S}_2$  and  $\text{S}_3$  segments. *Kidney Int* 35:454(a), 1989.
  36. Kurtz I: Basolateral membrane  $\text{Na}^+$  and  $\text{Cl}^-$  dependent  $\text{H}^+$ /base transport in the rabbit  $\text{S}_3$  proximal tubule. *Kidney Int* 35:457(a), 1989.
  37. Bidet M, Tauc M, Merot J, Vandewalle A y Poujeol P:  $\text{Na}^+/\text{H}^+$  exchanger in proximal cells isolated from rabbit kidney. I. Functional characteristics. *Am J Physiol* 253:F935-F944, 1987.
  38. Kinsella JL y Aronson PS: Amiloride inhibition of the  $\text{Na}^+/\text{H}^+$  exchanger in renal microvillus membrane vesicles. *Am J Physiol* 241:F274-F379, 1981.
  39. Vinay P, Manillier C, Lalonde L, Thibault G, Boulanger Y, Gougoux A y Cantin M: Comparative effect of ANF and various diuretics on isolated nephron segments. *Kidney Int* 31:946-955, 1987.
  40. Baumgartl H, Leichtweiss HP, Lubbers DW, Weiss C y Hurland H: The oxygen supply of the dog kidney: measurements of intrarenal  $\text{PO}_2$ . *Microvasc Res* 4:247, 1972.
  41. Friedman PA y Andreoli TE:  $\text{CO}_2$ -stimulated  $\text{NaCl}$  absorption in the mouse renal cortical thick ascending limb of Henle. *J Gen Physiol* 80:683-711, 1982.
  42. Burg MB y Green N: Function of the thick ascending limb of Henle's loop. *Am J Physiol* 224:659-668, 1973.
  43. Tejedor A, Noel J, Vinay P, Gougoux A y Boulanger Y: Metabolism of lactate by a suspension of thick ascending limbs: relations with transport. *Kidney Int* (en prensa), 1989.
  44. Skott O y Briggs JP: Direct demonstration of macule density-mediated renin secretion. *Science* 237:1618-1620, 1987.
  45. Garay RP, Hannaert PA, Nazaret C y Cragoe EJ: The significance of the relative effects of loop diuretics and anti-brain edema agents on the  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Cl}^-$  cotransport system and

- the  $\text{Cl}^-/\text{Na}^+/\text{CO}_3^-$  anion exchanger. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol* 334:202-209, 1986.
46. Nazaret CJ, Díez PA, Hannaert MO, Christen N, Wierzbicki RP y Garay: Inhibition of the  $\text{Cl}^-/\text{NaCO}_3^-$  anion exchanger by xipamide in human red blood cells. *Eur J Pharmacol* 144:356-362, 1987.
  47. Burg MB y Green N: Effect of ethacrynic acid on the thick ascending limbs of Henle's loop. *Kidney Int* 4:301-308, 1973.
  48. Burg MB, Stoner L, Cardinal J y Green N: Furosemide effect on isolated perfused tubules. *Am J Physiol* 225:119-124, 1973.
  49. Jackson EK, Branch RA, Margolius HS y Oates JA: Physiological functions of the renal prostaglandin, renin and kallikrein systems. En *The Kidney: Physiology and Pathophysiology*. DW Seldin y G Giebisch (Eds). Raven Press. New York, 613-644, 1985.
  50. Capasso G, Unwin R y Giebisch G: Characterization of bicarbonate transport in the loop of Henle. *Kidney Int* 35:452(a), 1989.
  51. Leviel F, Marty E, Costalat R, Paillard M y Bichara M: Amiloride-sensitive  $\text{Na}^+/\text{H}^+$  antiport in cells of medullary thick ascending limb of rat kidney. *Kidney Int* 35:458(a), 1989.
  52. Campbel DB: The possible mode of action of indapamide: a review. *Curr Med Res Opin* 8 Suppl. 3:9-24, 1983.
  53. Ball D, Elliott ME, Hadjokas N, Goodfriend TL y Green MJ: Veratridine, angiotensin receptors and aldosterogenesis in bovine adrenal glomerulosa cells. *Clin Exp Hypertens* 8:323-345, 1986.
  54. Rossier BC: The effect of aldosterone on renal tubule cells. State of the Art Lecture of the 21st Annual Meeting of the American Society of Nephrology. December 11-14, San Antonio, USA, 1988.
  55. Clauss W, Arnason SS, Munck BG y Kadhange ES: Aldosterone-induced sodium transport in lower intestine. Effects of varying NaCl intake. *Pflügers Arch* 401:354-360, 1984.
  56. Armanini D, Kuhnle U, Strasser T, Dorr H, Butenandt I, Weber PC, Stockigt JE, Pearce P y Funder JW: Aldosterone-receptor deficiency in pseudoaldosteronism. *N Engl J Med* 313:1178-1181, 1985.
  57. Claire M, Steimer JL, Oblin ME, Gaeggeler HP, Venot A, Corvol P y Rossier BC: Cytoplasmic and nuclear uptake of aldosterone in toad bladder: a mathematical modeling approach. *Am J Physiol* 248:C88-C101, 1985.
  58. Geering K, Claire M, Gaeggeler HP y Rossier BC: Receptor occupancy vs. induction of  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ -ATPase and  $\text{Na}^+$  transport by aldosterone. *Am J Physiol* 248: C102-C108, 1985.
  59. Armanini D, Strasser T y Weber PC: Characterization of aldosterone binding sites in circulating human mononuclear leukocytes. *Am J Physiol* 248:E388-E390, 1985.
  60. Beaumont K y Ganestil DD: Characterization of rat brain aldosterone receptors reveals high affinity for corticosterone. *Endocrinology* 113:2043-2051, 1983.
  61. Rafestin-Oblin ME, Claire M, Lombes M, Michaud A y Corvol P: Modulation of aldosterone receptors in rat kidney: effects of steroid treatment and potassium diet. *J Steroid Biochem* 21:465-470, 1984.
  62. O'Neil RG y Hayhurst RA: Sodium dependent modulation of the renal  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ -ATPase: influence of mineralocorticoids on the cortical collecting ducts. *J Membr Biol* 85:169-179, 1985.
  63. Szerlip HM, Weisberg L, Cayman M, Neilson E, Wade JB y Cox M: Aldosterone-induced proteins: purification and localization of GP65, 70. *Am J Physiol* 256:C865-C872, 1989.
  64. McBride D y Perrone RD:  $\text{K}^+$ -dependent  $\text{H}^+$  secretion: an aldosterone responsive pathway. *Kidney Int* 35:459(a), 1989.
  65. Armanini D, Witzgall H, Wehling M, Kuhnle U y Weber PC: Aldosterone receptors in different types of primary hyperaldosteronism. *J Clin Endocrinol Metab* 65:101-104, 1987.
  66. Gluck S y Al-Awqati Q: An electrogenic proton translocating ATPase from bovine kidney medulla. *J Clin Invest* 73:1704-1710, 1984.
  67. Kaunitz JD, Günther ED y Sachs G: Characterization of an electrogenic ATP and chloride-dependent proton translocating pump from rat renal medulla. *J Biol Chem* 260:11567-11573, 1985.
  68. Garg LC y Narang N: Ouabain-insensitive  $\text{K}^+$ -adenosine triphosphatase in distal nephron segments of the rabbit. *J Clin Invest* 81:1204-1208, 1988.
  69. Horisberger JD y Giebisch G: Potassium-sparing diuretics. *Renal Physiol* 10:198-220, 1987.
  70. Sariban-Sohraby S y Benos DJ: The amiloride-sensitive sodium channel. *Am J Physiol* 250:C175-C190, 1986.
  71. O'Neil RG y Boulpaep EL: Effect of amiloride on the apical cell membrane cation channels of a sodium absorbing potassium secreting renal epithelia. *J Membr Biol* 50:365-387, 1979.
  72. Velázquez H y Wright FS: Control by drugs of renal potassium handling. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 26:293-309, 1986.
  73. Kunau RT, Jr, Weller DR y Webb HL: Clarification of the site of action of chlorothiazide in the rat nephron. *J Clin Invest* 56:401-407, 1975.
  74. Constanzo LS: Location of diuretic action in microperfused rat distal tubules: Ca and Na transport. *Am J Physiol* 248:F527-F535, 1985.
  75. Sabatini S y Kurtzman NA: Thiazides stimulate calcium absorption in the turtle bladder. *Kidney Int* 33:954-958, 1988.
  76. Velázquez H: Thiazide diuretics. *Renal Physiol* 10:184-197, 1987.
  77. Ziyadeh FN, Kelepouris E y Agus ZS: Thiazides stimulate calcium absorption in urinary bladder of winter flounder. *Biochem Biophys Acta* 897:52-56, 1987.
  78. Bomszyk K y Calalb MB: Bicarbonate absorption stimulates active calcium absorption in the rat proximal tubule. *J Clin Invest* 81:1455-1461, 1988.
  79. Botton E, Gaviria M y Battle DC: Prevalence, pathogenesis and treatment of renal dysfunction associated with chronic lithium therapy. *Am J Kidney Dis* 10:329-345, 1987.
  80. Odland B, Beermann B, Lindstroem B y Eriksson O: Some effects of metolazone on electrolyte transport. *Ups J Med Sci* 92:19-35, 1987.