

¿Es la aldosterona un modulador del tono vascular?

Katy Sánchez-Pozos,* Norma A. Bobadilla*

* Unidad de Fisiología Molecular, Instituto de Investigaciones Biomédicas, Universidad Nacional Autónoma de México e Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Zubirán.

Is aldosterone a modulator of vascular tone?

RESUMEN

ABSTRACT

The vascular endothelium is a dynamic tissue that is sensitive to physical and chemical stimuli. The fact that endothelial cells are directly exposed to the blood fluid components provides the ability to regulate diverse physiological functions, among them are: the coagulation, the metabolism of the vascular wall, transcapillary permeability of solutes and water, and the vascular tissue remodeling. In addition to these functions, the vascular endothelium plays a major role in local regulation and maintenance of vascular tone. This function is performed by the release of vasoactive factors such as, nitric oxide, endothelin-1, angiotensin-II, adenosine, prostacyclins, thromboxanes, free radicals, among other compounds not less important. Recent studies have suggested a new player in the control of vascular tone: the aldosterone. Thus, the recent evidence suggests that this mineralocorticoid hormone may cause vasoconstriction in pathophysiological conditions, through modulating the gene expression and activity of endothelin-1, glucose 6 phosphate dehydrogenase and Rho kinase, as well as by altering the phosphorylation and activity of endothelial nitric oxide synthase (eNOS). It has also been observed involvement of aldosterone in the generation of oxidative stress, action exerted indirectly through reduction of the bioavailability of nicotinamide adenine dinucleotide phosphate (NADPH). Therefore, this review focuses on describing some of the mechanisms involved in the regulation of vascular tone and review studies that show recent evidence of the role of aldosterone as a mediator of this function.

Key words. Mineralocorticoid receptor. Renal injury. Ischemia/reperfusion. Spironolactone.

El endotelio vascular es un tejido dinámico, sensible a estímulos físicos y químicos. El hecho de que las células endoteliales se encuentren expuestas directamente a los componentes del fluido sanguíneo les proporciona la capacidad de regular diversas funciones fisiológicas, entre ellas la coagulación, el metabolismo de la pared vascular, la permeabilidad transcápilar de solutos y agua, y la remodelación del tejido vascular subyacente. Aunado a estas funciones, el endotelio vascular es trascendental en la regulación y mantenimiento local del tono vascular, función que realiza a través de la liberación de factores vasoactivos como el óxido nítrico, endotelina-1, angiotensina-II, adenosina, prostaciclina, tromboxanos, radicales libres, entre otros compuestos no menos importantes. Estudios recientes sugieren un nuevo actor en el control del tono vascular: la aldosterona. De esta manera, las evidencias apuntan a que esta hormona mineralocorticoide puede producir vasoconstricción en condiciones fisiopatológicas, a través de activar genes como la endotelina-1, la glucosa 6 fosfato deshidrogenasa y cinasa Rho, así como alterar la fosforilación y actividad de la sintasa de óxido nítrico endotelial (eNOS). Asimismo, se ha observado la implicación de la aldosterona en la generación de estrés oxidante, acción que ejerce indirectamente a través de la reducción de la biodisponibilidad de nicotinamida-adenina-dinucleótido-fosfato reducido (NADPH). Por lo tanto, esta revisión se centra en describir algunos de los mecanismos implicados en la regulación del tono vascular y revisar los estudios en los que se muestra la evidencia reciente del papel de la aldosterona como mediadora de esta función.

Palabras clave. Receptor de mineralocorticoides. Daño renal. Isquemia/reperfusión. Espironolactona.

REGULACIÓN DEL TONO VASCULAR

En la superficie del músculo liso vascular se encuentra una gran variedad de receptores y mediadores que participan en la regulación del tono vascular. Los receptores son de tipo transmembrana-

les acoplados a proteínas G para la bradicinina, adenosina, angiotensina II, etc. Estos receptores son estimulados por su ligando, lo que activa a la fosfolipasa C y la producción de dos segundos mensajeros: el trifosfato inositol (IP₃) y el diacilglicerol. La activación de estos segundos mensajeros produce

una elevación en los niveles de calcio (Ca^{2+}) intracelular y la activación de la proteína cinasa C (PKC), lo que resulta en cambios en la pared vascular, como son: vasoconstricción, remodelación de la pared celular y angiogénesis.¹

En ausencia de la monocapa endotelial, los agentes involucrados en el control del tono vascular desencadenan respuestas diferentes. Al respecto, cuando la pared vascular está dañada por aterosclerosis, la acetilcolina induce vasoconstricción en lugar de vasodilatación, como lo hace en condiciones normales.^{2,3} Esto sugiere que la integridad del endotelio y el balance en la liberación de factores vasoactivos repercuten en el mantenimiento de la función de las células del músculo liso vascular. Dentro de los mediadores vasoactivos más importantes destacan: el óxido nítrico, las prostaglandinas, la angiotensina, la endotelina y el tromboxano. Además, evidencia reciente muestra que la aldosterona en condiciones fisiopatológicas participa como un mediador importante en la regulación del tono vascular, por lo que a continuación se revisarán los mecanismos involucrados en este efecto.

Acción clásica de la aldosterona

La aldosterona es una hormona encargada del equilibrio electrolítico en el organismo, acción que ejerce por medio de la reabsorción de sodio y la excreción de potasio en el túbulo distal y colector de la nefrona en el riñón. Esta acción, conocida como “acción genómica” de la aldosterona, la lleva a cabo a través de su unión a los receptores mineralocorticoides (RM).⁴ Normalmente los RM están en el citoplasma, unidos a proteínas chaperonas, entre ellas: la proteína de choque término de 90 kDa (Hsp90), e indirectamente a la Hsp70, así como a las proteínas p23, p48, la inmunofilina FKBP-59 y la ciclofilina CYP40.⁵⁻⁷ La aldosterona, por su estructura esteroidea, difunde fácilmente al interior de la célula y al unirse al RM se provoca un cambio conformacional que da como resultado, por una parte, la liberación del complejo chaperónico y, por otra, la formación del complejo aldosterona-RM. Este último complejo se transloca al núcleo, donde es capaz de activar la transcripción de diversos genes mediante su unión a los elementos de respuesta a este tipo de hormona presentes en la región promotora de genes específicos (HRE). Los genes blanco y, por tanto, los efectores finales de la acción clásica de la aldosterona son: el canal epitelial de sodio (ENaC), el cotransportador de Na^+ - Cl^- (NCC), la bomba Na^+ - K^+ ATPasa y el canal de K^+ (ROMK).^{4,7}

En condiciones fisiológicas, la secreción de aldosterona por las glándulas suprarrenales está regulada principalmente por la angiotensina II, la hormona corticotropa (ACTH), el péptido natriurético auricular (ANP) y por un aumento en la concentración plasmática de K^+ . La angiotensina II estimula la síntesis y la secreción de aldosterona a través de su unión a los receptores AT_1 presentes en la glándula suprarrenal. Mientras que el K^+ estimula la secreción de aldosterona dependiente de canales sensibles a potasio. Dentro de los estímulos reconocidos para la secreción de aldosterona se encuentran: la disminución de la presión de perfusión renal, el aumento en la concentración plasmática de K^+ y la disminución del volumen circulante efectivo (hipovolemia).⁸⁻¹¹

Estudios recientes mostraron la presencia de los RM en otros tejidos como el corazón, el cerebro, la vasculatura y las neuronas; además de encontrarse en el túbulo distal y colector, también se les ha localizado en los capilares glomerulares y en las células mensajales, manifestando la posibilidad de que la aldosterona ejerza otras acciones, independientes de su efecto sobre la reabsorción de sodio y la excreción de potasio. En efecto, en condiciones fisiopatológicas, la aldosterona parece tener un papel preponderante en el desarrollo de fibrosis, apoptosis, estrés oxidante, además de participar en la regulación anormal del tono vascular como se detalla a continuación.¹²⁻¹⁶

Acciones no genómicas de la aldosterona

Otras acciones de la aldosterona se conocen como efectos “no genómicos”, puesto que no dependen de la unión de la aldosterona a su RM y de la consecuente activación de la transcripción génica. Esta acción no genómica de la aldosterona se produce en un lapso de segundos a minutos y se caracteriza por el aumento inmediato de los niveles de trifosfato inositol (IP_3) y del calcio intracelular. Estos efectos no son revertidos por los antagonistas de los RM.¹⁷⁻²¹ En este contexto, se ha observado que la adición de aldosterona a arterias mesentéricas y cerebrales induce una respuesta vasodilatadora rápida,²² mientras que se produce una respuesta opuesta (vasoconstricción) cuando el endotelio es removido.

Dentro de estas acciones rápidas mediadas por la aldosterona se ha observado la activación de la vía de señalización de la cinasas reguladas por estímulos extracelulares (ERK1/2) en células de embrión humano y en células de músculo liso vascular.^{23,24}

Sin embargo, aún no se conocen con exactitud los mecanismos por los cuales la aldosterona ejerce estas acciones, algunos autores sugieren que están involucrados receptores de membrana como el receptor GPR30 (receptor acoplado a proteínas G de siete dominios transmembrana);²⁴ otros sugieren que estas acciones también dependen de los RM.^{17,25} A este respecto, Grossman, *et al.*²⁵ mostraron que las acciones no genómicas son, en parte, mediadas por la unión de la aldosterona al dominio carboxilo del RM (dominio EF). Esta interacción produce una transactivación del receptor del factor de crecimiento epidérmico (EGFR) en la membrana celular, lo que a su vez induce la fosforilación y activación de ERK1/2. De acuerdo con esta observación, Min, *et al.*²⁶ mostraron que la adición de la aldosterona a células de músculo liso vascular aumenta la proliferación celular y la actividad del EGFR.

Los efectos no genómicos de la aldosterona también se han documentado en humanos. Schmidt, *et al.*²⁷ reportaron que la infusión de aldosterona a 48 individuos sanos produjo un aumento significativo del flujo sanguíneo del antebrazo después de 10 min del inicio de la infusión. Estos resultados no fueron reproducidos por Nietlispach, *et al.*,²⁸ ya que la infusión de aldosterona no modificó el flujo sanguíneo del antebrazo en los ocho sujetos sanos que incluyeron, aunque sí observaron que la aldosterona aumentó la respuesta vasodilatadora a acetilcolina, la cual es dependiente de una mayor generación de óxido nítrico. También se ha documentado que la infusión de aldosterona a 13 hombres sanos produjo un aumento del flujo sanguíneo renal y redujo la resistencia vascular renal, pero las diferencias no fueron estadísticamente significativas. Estos estudios mostraron que en condiciones normales la aldosterona puede ejercer acciones rápidas que dependen de la integridad del endotelio y sugieren que en condiciones fisiopatológicas en donde exista daño endotelial, la aldosterona puede ejercer efectos deletéreos a través de sus acciones tanto genómicas como no genómicas.

La aldosterona en la regulación del tono vascular

En un estudio realizado en corazones de rata aislados y perfundidos, Chai, *et al.* observaron que la aldosterona es un vasoconstrictor potente y que sus efectos fueron similares a los de la angiotensina II. La vasoconstricción inducida por la aldosterona fue inhibida con la administración de espironolactona (antagonista farmacológico de los RM), lo que sugie-

re que la aldosterona ejerce este efecto a través de sus acciones genómicas.²⁹

Otro estudio realizado por Leopold, *et al.*³⁰ mostró que uno de los mecanismos mediante el cual la aldosterona ejerce vasoconstricción es aparentemente mediado por la disminución en la transcripción de la enzima glucosa-6-fosfato deshidrogenasa (G6PD), enzima clave en la generación de NADPH reducido, el cual, a su vez, es un cofactor esencial para la actividad de la sintasa de óxido nítrico endotelial y es el responsable de mantener los niveles de glutatión reducido. Por lo tanto, la actividad de la G6PD es fundamental para mantener el equilibrio en la formación de óxido nítrico y especies reactivas de oxígeno y así mantener una función vascular adecuada. La reducción de G6PD inducida por la aldosterona fue prevenida con el uso de espironolactona, poniendo nuevamente de manifiesto que las acciones de aldosterona sobre la función vascular son mediadas a través de su unión a los RM y no por los efectos no genómicos propuestos para esta hormona.

En un estudio realizado por Sartorio, *et al.*,³¹ se observó que la administración de eplerenona (otro antagonista de los RM) mejoró la disfunción endotelial en animales sometidos a infarto agudo al miocardio. El efecto benéfico del bloqueo de los RM se asoció con una reducción del estrés oxidante y un aumento en la biodisponibilidad de NO, resultados similares a los que observaron Leopold, *et al.*,³⁰ lo que sugiere, además, la participación de la aldosterona en el control de la función vascular del tejido cardíaco.

Respecto al papel de la aldosterona sobre la generación de radicales libres, en un estudio realizado en ratas a las que se le infundió aldosterona de manera crónica, se observó un incremento en el estrés oxidante renal, así como un aumento en la actividad de las cinasas reguladas por señales extracelulares ERK 1/2, c-Jun-NH2 (JNK) y MAPK-1. La administración de eplerenona previno el desarrollo de hipertensión y de la proteinuria; asimismo evitó el incremento del estrés oxidante y el aumento de la actividad de estas cinasas. Este estudio sugiere que la aldosterona ejerce parte de sus efectos deletéreos a través de la inducción de especies reactivas de oxígeno (ERO).³² En apoyo a esta observación, Hayashi, *et al.* mostraron que la adición de aldosterona a cardiomiocitos de rata produce un aumento en la generación de ERO y muerte celular por apoptosis, efectos que fueron prevenidos por la administración de eplerenona.³³ En forma similar, en células epiteliales renales en cultivo (MMDD1), se demostró que la infusión de aldosterona aumentó de manera signi-

ficativa la producción de unión superóxido, efecto bloqueado por el uso de un antagonista de los RM.³⁴ El incremento en las especies reactivas de oxígeno inducido por la aldosterona parece ser el resultado tanto de la reducción de G6PDH,³⁰ como del incremento en la enzima oxidasa NAD(P)H, como se mostró recientemente en células endoteliales en cultivo.³⁵

Otro mecanismo por el que la aldosterona parece regular el tono vascular es mediante el control de la expresión de factores vasoactivos. En estudios previos de nuestro laboratorio se ha mostrado la participación de la aldosterona en inducir la vasoconstricción renal que caracteriza a la nefrotoxicidad por ciclosporina (CsA). Aunque los beneficios de la inmunosupresión con CsA han sido evidentes, su uso a largo plazo está limitado por los efectos secundarios que produce, entre ellos destaca el efecto nefrotóxico.³⁶ Se han descrito dos formas de nefrotoxicidad: la aguda o moderada y la crónica o severa. La nefrotoxicidad aguda se caracteriza por vasoconstricción renal, lo que produce una reducción en la función renal. En cambio, la nefrotoxicidad crónica se caracteriza por vasoconstricción renal y lesiones estructurales como la arteriopatía y la fibrosis túbulo-intersticial.^{4,37} En un primer estudio, utilizando el modelo de nefropatía crónica por CsA, se observó que la administración de espironolactona redujo el área de fibrosis túbulo-intersticial y el porcentaje de arteriopatía.³⁸ Este efecto renoprotector se asoció con una reducción en los niveles de RNAm de TGFβ, fibronectina, colágena I y colágena IV. Un hallazgo particularmente interesante de este estudio fue que la espironolactona previno por completo la disfunción renal, es decir, previno la vasoconstricción renal que induce la CsA. En un estudio posterior se encontró que la espironolactona también previno la nefrotoxicidad aguda por CsA que se caracteriza exclusivamente por vasoconstricción renal, lo que puso de manifiesto que la aldosterona ejerce un papel primordial en promover la vasoconstricción renal que induce la administración de CsA.³⁹ Finalmente, se completó el abordaje de este efecto renoprotector en un modelo de nefrotoxicidad por CsA previamente establecida, en donde se observó que la administración tardía de la espironolactona fue capaz de detener el deterioro gradual de la función y la estructura renal.⁴⁰ Por lo tanto, nuestros resultados previos sugerían fuertemente que la aldosterona modula el tono de la vasculatura renal y contribuye a la vasoconstricción renal observada en esta condición fisiopatológica. Por todo lo anterior se infiere que si la aldosterona propicia vasoconstricción renal

en condiciones fisiopatológicas en las que, además, se acompañan de un aumento en la secreción de aldosterona, entonces el bloqueo de las acciones de aldosterona con espironolactona sería una maniobra útil para reducir o prevenir la lesión renal aguda inducida por isquemia/reperfusión (I/R) renal, en donde la hipoperfusión y la elevación de aldosterona toman un lugar preponderante.

La aldosterona en el daño renal inducido por isquemia/reperfusión

La lesión renal aguda (LRA) es un síndrome que se desarrolla después de una caída transitoria en el flujo sanguíneo renal. El daño renal por isquemia-reperfusión (I/R) es la mayor causa de LRA en riñones nativos y trasplantados.^{41,42} Aunque la reperfusión es esencial para que sobreviva el tejido isquémico, hay evidencia de que la reperfusión por sí misma causa daño celular adicional.^{42,43} A pesar de los avances en las estrategias preventivas, esta enfermedad continúa con alta morbilidad y mortalidad que no se ha modificado en las últimas cuatro décadas,^{42,44} su incidencia es entre 20 y 40% en los pacientes en terapia intensiva y alrededor de 20% de los pacientes fallece por esta causa.^{42,45} La LRA también es frecuente en los pacientes sometidos a cirugía cardíaca mayor (30%), pacientes sometidos a trasplante renal, o bien, aquéllos que reciben fármacos nefrotóxicos (algunos antibióticos, inhibidores de calcineurina, anti-inflamatorios no esteroideos o cisplatino).⁴⁶⁻⁵⁰ La LRA constituye un problema de salud pública por su frecuencia creciente, su asociación con graves complicaciones y altos costos, así como elevada mortalidad a corto y a largo plazo.

Con el fin de conocer la participación de la aldosterona en el daño renal agudo se evaluó el efecto del tratamiento profiláctico con espironolactona antes de inducir isquemia.⁵¹ Después de 24 h de reperfusión, las ratas sometidas a isquemia renal desarrollaron disfunción renal que se caracterizó por un aumento en los niveles de creatinina sérica, como consecuencia de la reducción de la depuración de creatinina. El daño funcional renal observado se asoció con una reducción significativa en el flujo sanguíneo renal, como se muestra en la figura 1. En cambio, en los tres grupos que recibieron tratamiento profiláctico con espironolactona se previno la elevación de la creatinina sérica como consecuencia del restablecimiento del flujo sanguíneo renal (Figuras 1A y 1B). Los estudios histopatológicos con microscopía de luz revelaron que la I/R produjo daño tubular severo. Cabe mencionar que

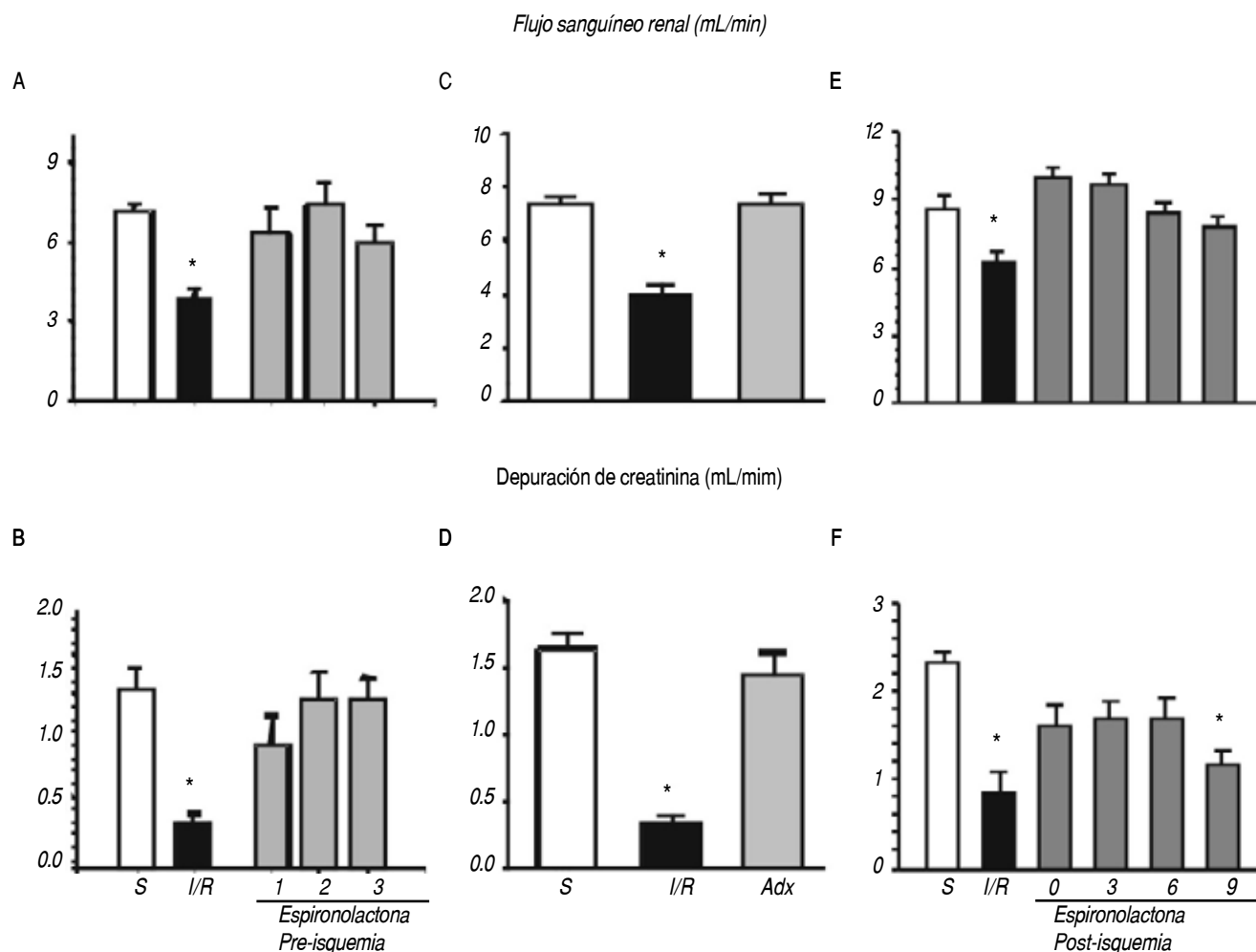


Figura 1. Efecto de la administración de espironolactona o de la adrenalectomía sobre la disfunción renal inducida por un fenómeno de isquemia/reperfusión (I/R). En todas las gráficas, los grupos que se sometieron a cirugía falsa se representan por las barras blancas, mientras que los grupos sometidos a I/R se representan por las barras negras. **A y B.** Administración profiláctica de espironolactona (20 mg/kg), uno, dos o tres días antes de inducir I/R (Sp1, Sp2, Sp3, respectivamente) (barras grises). **C y D.** Efecto de la adrenalectomía (Adx) antes de inducir I/R (barras grises). **E y F.** Administración de espironolactona 0, 3, 6 y 9 h después de inducir isquemia (barras gris oscuro). * $p < 0.05$ vs. el grupo de ratas operado en forma falsa.

todas estas lesiones estuvieron prácticamente ausentes en las ratas pretratadas con espironolactona. Además, la recuperación del flujo sanguíneo renal observado con el pretratamiento con espironolactona se asoció con un restablecimiento de la producción de óxido nítrico y una reducción del estrés oxidante.

Sin embargo, aún era posible que la espironolactona ejerciera sus efectos por acciones no específicas, es decir, que la renoprotección no fuera mediada a través del bloqueo de sus receptores sino a través de un mecanismo indirecto. En un estudio publicado por nuestro grupo se evaluó si la ausencia de aldosterona, conseguida por la adrenalectomía, prevenía las lesiones inducidas por un fenómeno I/R.⁵² La hi-

poperfusión e hiperfiltración (Figuras 1C y 1D), así como la necrosis tubular aguda inducida por I/R, no se observaron en los animales adrenalectomizados antes de inducir isquemia.

Debido a que en muchos casos es difícil predecir la lesión renal aguda, en un estudio publicado recientemente por nuestro laboratorio se evaluó si la espironolactona podía prevenir la vasoconstricción renal una vez que se ha producido el insulto por isquemia renal. La administración de espironolactona hasta 6 h después de inducir isquemia, previno la caída de la función renal, es decir, mantuvo al tejido renal en mejores condiciones de perfusión renal⁵³ (Figuras 1E y 1F). Por lo tanto, nuestros estudios sugieren que:

- La aldosterona juega un papel clave en mediar el daño renal por isquemia.
- El efecto benéfico de la espironolactona se debe a su habilidad de bloquear a los receptores de mineralocorticoides.
- El antagonismo de los receptores de mineralocorticoides puede utilizarse como una estrategia promisoriosa, segura y de bajo costo para proteger contra el daño renal inducido por I/R, lo que abre una nueva posibilidad terapéutica para prevenir la necrosis tubular aguda en pacientes susceptibles de desarrollarla y en pacientes que recibirán trasplante de órganos. Sin embargo, aún quedan por dilucidar los mecanismos y los factores involucrados, por lo que el bloqueo de las acciones de la aldosterona mejora la perfusión renal.

La aldosterona en la regulación de la síntesis de factores vasoactivos

El óxido nítrico (NO) es un potente vasodilatador; sin embargo, no es el único responsable de la vasodilatación del músculo liso vascular, ya que existen otros factores vasodilatadores como la prostaciclina. El NO se produce cuando L-arginina es transformada a L-citrulina por medio de la catálisis de la sintasa de NO (NOS).^{54,55}

Existen tres isoformas de la NOS:

- **NOS endotelial (eNOS).** De expresión constitutiva, principalmente en células endoteliales.
- **NOS de tipo neuronal (nNOS).** Enzima que se expresa en el cerebro, nervios periféricos y riñones.
- **Isoforma inducible (iNOS).** Expresión inducida principalmente en macrófagos en respuesta a lipopolisacáridos bacterianos y citocinas.⁵⁶

Existen varios mecanismos por los cuales se regula la producción de NO, el primer mecanismo descrito tiene que ver con la biodisponibilidad de L-arginina, el precursor de NO. Varios estudios demostraron que la suplementación con L-arginina mejora la disfunción endotelial en pacientes con hipercolesterolemia y en varios modelos animales.^{57,58} La biodisponibilidad de tetrahidrobiopterina (BH4), un cofactor en la síntesis de NO, también influye en la producción de NO, de tal manera que cuando los niveles de este cofactor son bajos, no se lleva a cabo el acoplamiento adecuado entre eNOS y L-arginina, produciéndose el anión superóxido (O²⁻).⁵⁹ Otro mecanismo importante es la interacción que ejerce con

la proteína de choque térmico de 90 kDa (Hsp90) y con la caveolina, la primera ayuda a la activación de eNOS, mientras que la segunda propicia su inactivación.⁶⁰ La actividad de eNOS también es regulada por su estado de fosforilación. A este respecto, se ha reportado que eNOS tiene al menos cinco sitios potenciales de fosforilación. La fosforilación en la serina 1177 y la serina 633 producen que la enzima se active, mientras que la fosforilación de la treonina 495 disminuye la actividad de eNOS y disminuye así la síntesis de NO.⁶¹⁻⁶³

En este contexto, los animales sometidos a isquemia bilateral renal y que presentaron una elevación de más de diez veces en los niveles de aldosterona, la caída del flujo sanguíneo renal y de la excreción urinaria de nitritos y nitratos (los metabolitos estables de NO) se asociaron con una disminución en la fosforilación de la serina 1177 de eNOS y con un aumento en la fosforilación inactivante de la treonina 495. Estas alteraciones no se observaron cuando los animales se pretrataron con espironolactona, lo que sugiere que en el daño renal inducido por isquemia, uno de los mecanismos por los que la aldosterona promueve vasoconstricción renal, es a través de reducir la producción de NO, lo que favorece un mayor efecto de los factores vasoconstrictores, como la angiotensina II (elevada en este modelo), y a su vez perpetúa el daño por isquemia.⁵¹ En un estudio posterior, se observó que en las ratas adrenalectomizadas sometidas a isquemia, los niveles de fosforilación de la serina 1177 de eNOS no fueron reducidos,⁵² lo que sugiere que la aldosterona propicia estos cambios en la actividad de eNOS, probablemente al modificar la actividad de cinasa y/o fosfatasa.

En apoyo a nuestros resultados, en células endoteliales aisladas de cordón umbilical humano se ha reportado que la exposición a aldosterona no sólo disminuye de manera significativa los niveles de fosforilación de serina 1177, sino que también produce un aumento en la producción de radicales libres, y como consecuencia una reducción en la biodisponibilidad de NO.⁶⁴ Asimismo, en otro estudio realizado en ratones transgénicos que expresan una forma fosfomimética de eNOS (S1179D) se observó que al producirles oclusión cerebral, estos ratones presentaban un mayor flujo sanguíneo cerebral comparado con los ratones silvestres, por lo que la modulación de la fosforilación de eNOS es un factor crucial en la función vascular y en el flujo sanguíneo en animales con isquemia cerebral.⁶⁵ Asimismo, en ratones knockout para eNOS a los que se les indujo diabetes por medio de la administración de estreptozotocina se observó un aumento en la presión sanguínea que se

mejoró en forma transitoria con la administración de telmisartán (inhibidor del receptor AT1 de angiotensina II) y enalapril (inhibidor de la enzima convertidora de angiotensina). También se encontró que el tratamiento con espirolactona restableció la presión sanguínea y previno el daño renal.⁶⁶ En un estudio reciente en células del músculo liso de aorta se demostró que la infusión de aldosterona inhibe a iNOS, lo que sugiere una acción directa de aldosterona en la síntesis de NO.⁶⁷ Todo esto apoya a la participación de la aldosterona en el control del tono vascular a través de la regulación de la actividad de eNOS; sin embargo, ahora también se conocen otros mecanismos involucrados, como el incremento en endotelina, el estrés oxidante y la cinasa Rho.

La endotelina-1 (ET-1) es un péptido vasoconstrictor de 21 aminoácidos que se encuentra en la circulación. Sus acciones son ejercidas prácticamente en toda la vasculatura y también en el riñón donde se encuentran los receptores para este péptido. Existen dos formas adicionales de endotelina, ET-2 y ET-3; no obstante, la isoforma sintetizada de manera predominante por la vasculatura es la ET-1.^{58,68}

La ET-1 es liberada constitutivamente por las células endoteliales y ejerce su acción a través de unirse a sus receptores presentes en el músculo liso vascular.⁶⁹⁻⁷¹ Además, la síntesis de ET-1 es regulada a nivel génico por factores proinflamatorios como el factor transformante de crecimiento beta (TGFβ), el factor de necrosis tumoral alfa (TNFα), las interleucinas, la insulina; la angiotensina II, el NO, la hipoxia y el *shear stress*.^{69,72,73} La ET-1 es sintetizada en su forma inactiva pre-pro ET-1, que es escindida a pro ET-1 y posteriormente a ET-1 por las enzimas convertidoras de endotelina (ECE-1 y ECE-2, respectivamente). Las acciones de ET-1 son ejercidas a través de sus receptores acoplados a proteínas G: el receptor ETA, que se encuentra en células del músculo liso, vasculatura glomerular y médula renal; y el receptor ETB presente en endotelio vascular y tejidos epiteliales como los túbulos renales y colectores.⁷⁴

La función principal de la ET-1 a través de su receptor ETA es el control del tono vascular por medio de la generación de vasoconstricción y la retención de sodio. También se conoce que la activación del receptor ETA produce una elevación de la presión sanguínea. La función del receptor ETB es más compleja, ya que puede tener papeles duales en el control del tono vascular dependiendo de su localización, de tal manera que si su activación se lleva a cabo en las células del músculo liso, producirá vasoconstricción, mientras que si se activa el receptor ETB loca-

lizado en endotelio se produce vasodilatación que es mediada por la liberación de NO.⁷⁵⁻⁷⁷

Como se mencionó anteriormente, el efecto vasoconstrictor de la ET-1 también lo ejerce regulando la síntesis de NO, ya que se ha observado que la ET-1 inhibe la producción de NO y viceversa.^{78,79} La infusión de ET-1 de manera intravenosa produce al inicio hipotensión, resultado de una disminución de la resistencia vascular, seguida de una fase de elevación prolongada de la presión sanguínea, acompañada de un aumento en la resistencia vascular y de una disminución en la producción de NO.⁸⁰ Asimismo, la ET-1 es capaz de inhibir el efecto vasodilatador inducido por los receptores β-adrenérgicos y por la activación de la proteína cinasa C.⁸¹ La ET-1 también es capaz de estimular a otros vasoconstrictores como la norepinefrina o la serotonina, contribuyendo así a una mayor vasoconstricción.^{71,82} Es importante mencionar que aún falta por dilucidar el papel específico de cada uno de los receptores de la ET-1, tarea que no ha sido fácil, debido a que diversos estudios sugieren que en ciertas patologías, como hipertensión pulmonar y enfermedad renal se asocia con cambios en la expresión de los receptores de endotelina.⁸³ No obstante, es a través de sus receptores que la ET-1 participa en el control y mantenimiento del tono vascular y que la regulación de los efectos de ET-1 puede ser específica y dependiente de la integridad del endotelio.

Debido a que la ET-1 es capaz de inhibir el transporte de sodio en el epitelio de túbulos colectores,⁸⁴ varios investigadores infirieron una posible relación entre la aldosterona y la ET-1. Stow, *et al.*⁸⁵ demostraron de manera contundente que la aldosterona regula al gen que codifica para la ET-1. En este estudio se observó que la exposición de células aisladas del túbulo colector a la aldosterona produjo un aumento a la síntesis de endotelina, acción que fue mediada a través de los RM. Un estudio realizado por Nguyen, *et al.*,⁸⁶ apoya estas observaciones, ya que en los ratones que sobre-expresan el RM exclusivamente en las células endoteliales en forma condicional se observó un aumento en la respuesta contráctil a agentes vasoconstrictores, lo que además se acompañó de un aumento en la presión sanguínea y en los niveles sanguíneos de endotelina, independientemente de la homeostasis Na⁺/K⁺ y de la activación del sistema-renina-angiotensina. Este efecto se previno con la administración de canrenoato, inhibidor de los RM. En apoyo a estos hallazgos, en un estudio reciente de nuestro laboratorio se mostró que en las ratas a las que se les indujo I/R (que como consecuencia de la hipoperfusión presentan

valores elevados de aldosterona), los niveles de RNAm y de proteína de endotelina en el tejido renal estaban aumentados. Esto se previno cuando los animales se trataron con espironolactona inmediatamente, tres o seis horas después de la isquemia.⁵³ Todos estos estudios señalan que la aldosterona puede contribuir al control del tono vascular, mediante la regulación de la expresión y la liberación de endotelina.

Aldosterona y Rho cinasa (Rock-1)

La cinasa Rho es una proteína que se encuentra implicada en procesos de generación de contractilidad y motilidad celular que conducen a la adhesión focal y a la formación de los miofilamentos celulares del citoesqueleto. Existen dos isoformas de la cinasa Rho: ROCK-I y ROCK-II, también conocidas como cinasas rho β y α , respectivamente.⁸⁷ La cinasa Rho ejerce su función cuando es activada por una proteína G pequeña, denominada Rho A, proceso mediado por los receptores de proteínas G. Esta cinasa regula la fosforilación de las cadenas ligeras de miosina (CLM), con lo cual promueve la contracción del músculo liso vascular (MLV). Este efecto es regulado por la cinasa Rho a través de dos mecanismos independientes: el primero obedece a la capacidad de la cinasa Rho para fosforilar a la fosfatasa de las cadenas ligeras de miosina (p-FCLM), lo que resulta en la desactivación de esta fosfatasa, manteniendo así a las CLM fosforiladas y unidas a la actina. El segundo mecanismo lo lleva a cabo por medio de la fosforilación directa de la cadena ligera de miosina, aumentando así la contracción del músculo liso vascular.^{88,89} La cinasa Rho también se ha involucrado en mediar los efectos vasculares de ciertos factores vasoactivos como la angiotensina II, la serotonina, trombina, la endotelina I y la norepinefrina, entre otros.^{90,91} Se ha observado que la inhibición de la cinasa Rho con fasudil reduce el daño renal (proteinuria, glomeruloesclerosis y fibrosis túbulo-intersticial) en modelos de enfermedad renal como hipertensión, isquemia/reperfusión y por la infusión de aldosterona.⁹²⁻⁹⁵ También se ha descrito que la cinasa Rho fosforila a eNOS en la treonina 495, lo que da como resultado que eNOS se encuentre en su forma inactiva con la consecuente menor producción de NO, efecto que es revertido por el tratamiento con fasudil.⁹⁴ En este sentido, se ha mostrado que el daño renal inducido por isquemia/reperfusión se asocia con un incremento de los niveles de la cinasa Rho, efecto que es revertido cuando los animales son adrenalectomizados⁵² o tratados

con el antagonista de los RM.⁹⁶ Esto sugiere que la aldosterona también regula la expresión de la cinasa Rho. En apoyo a esta hipótesis, se ha documentado que la exposición de cultivos de células de músculo liso vascular a aldosterona aumenta la fosforilación de la subunidad de la fosfatasa de miosina (MYPT-1) que es un indicador de la actividad de cinasa Rho.⁹⁵ Lo que además se acompañó con mayor migración celular y remodelación del citoesqueleto. Además, en cardiomiocitos de rata se observó que la estimulación con aldosterona producía un aumento en los niveles de endotelina-1 y una mayor fosforilación y actividad de la cinasa Rho.⁹⁷ La participación de la aldosterona en la regulación de la actividad de la cinasa Rho también ha sido demostrada en pacientes con hipertensión arterial sistémica. Fujimura, *et al.*,⁹⁸ recientemente mostraron que el tratamiento con eplerenona durante cuatro años produjo una reducción de la presión arterial de los individuos hipertensos, lo que se asoció con una menor actividad de la cinasa Rho; se encontró que estos dos efectos no se observaron cuando se utilizaron otros tratamientos antihipertensivos. En otros estudios se ha reportado que el bloqueo de los RM en pacientes con enfermedad renal crónica produce un efecto renoprotector adicional al disminuir las cifras de proteinuria con respecto a los pacientes que reciben otros fármacos antihipertensivos.⁹⁹⁻¹⁰² Sólo quedaría por investigar si este efecto benéfico se asocia con una menor actividad de la cinasa Rho. Estos estudios en conjunto sugieren la posible interrelación entre la cinasa Rho y la aldosterona en un contexto fisiopatológico.

CONCLUSIONES

El mantenimiento y el control del tono vascular no dependen de un solo componente, sino de la participación conjunta de varios factores. En condiciones fisiopatológicas, el balance en la liberación de estos factores se altera, lo que trae como consecuencia una alteración en el aporte de oxígeno y en la liberación de especies reactivas de oxígeno, provocando a su vez un círculo vicioso al promover mayor daño celular. Durante condiciones adversas, la activación del sistema renina angiotensina aldosterona (SRAA) toma lugar. En particular, la elevación de los niveles circulantes y locales de aldosterona pueden desencadenar acciones profibróticas y apoptóticas, aunque otro mecanismo adverso que puede intervenir es el relacionado con la inducción de mayor contracción del músculo liso vascular. Se han encontrado al menos cuatro mecanismos por los

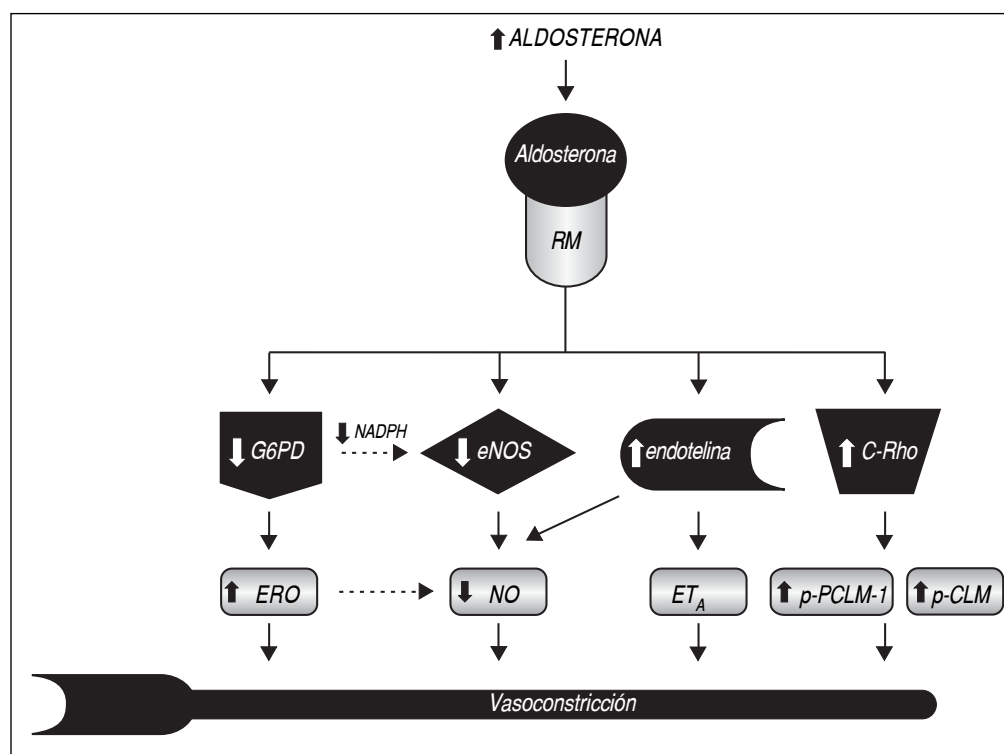


Figura 2. Mecanismos por los que la aldosterona regula el tono vascular. RM: receptor de mineralocorticoides. G6PD: glucosa 6 fosfato deshidrogenasa. ERO: especies reactivas de oxígeno. eNOS: sintasa de óxido nítrico endotelial. NO: óxido nítrico. ET_A: receptor A de endotelina. p-PCLM: fosfatasa de las cadenas ligeras de miosina. p-CLM: fosforilación de las cadenas ligeras de miosina.

cuales la aldosterona puede inducir vasoconstricción y que se esquematizan en la figura 2:

- Mediante la disminución en la expresión de la enzima G6PD, lo que promueve una reducción en la actividad de la eNOS y, por lo tanto, menor síntesis de óxido nítrico, lo que además se acompaña de un incremento en la generación de especies reactivas de oxígeno.
- Al reducir la fosforilación activante de eNOS y a su vez promover la fosforilación inactivante de eNOS.
- Al aumentar la transcripción del gen de la endotelina-1, un potente vasoconstrictor del músculo liso vascular.
- Al incrementar los niveles de la cinasa Rho, lo que a su vez aumenta la fosforilación de la fosfatasa de las cadenas ligeras de miosina (p-PCLM) y con esto su inactivación, así como al de aumentar la fosforilación de las cadenas ligeras de miosina (CLM).

AGRADECIMIENTOS

Se reconoce la entusiasta participación y colaboración de los miembros de la Unidad de Fisiología Molecular y la asistencia técnica de Rosalba Pérez

Villalva. Los artículos citados de nuestro laboratorio fueron apoyados por el Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (48483, 101030 y 112780) y por la Universidad Nacional Autónoma de México (DGAPA IN2009-09-3 IN203412-3). Katy Sánchez-Pozos es alumna de posgrado y becaria del Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología.

REFERENCIAS

1. Newby AC, Henderson AH. Stimulus-secretion coupling in vascular endothelial cells. *Annu Rev Physiol* 1990; 52: 661-74.
2. Cola MS, Gava AL, Meyrelles SS, Vasquez EC. Endothelial dysfunction of resistance vessels in female apolipoprotein E-deficient mice. *Lipids Health Dis* 2010; 9: 51.
3. Napoli R, Guardasole V, Zarra E, D'Anna C, De SA, Lupoli GA, et al. Impaired endothelial- and nonendothelial-mediated vasodilation in patients with acute or chronic hypothyroidism. *Clin Endocrinol (Oxf)* 2010; 72(1): 107-11.
4. Bobadilla NA, Gamba G. New insights into the pathophysiology of cyclosporine nephrotoxicity: a role of aldosterone. *Am J Physiol Renal Physiol* 2007; 293(1): F2-F9.
5. Viengchareun S, Le MD, Martinier L, Munier M, Pascual-Le TL, Lommes M. The mineralocorticoid receptor: insights into its molecular and (patho)physiological biology. *Nucl Recept Signal* 2007; 5: e012.
6. Weber M, Wehling M, Losel R. Proteins interact with the cytosolic mineralocorticoid receptor depending on the ligand. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2008; 295(1): H361-H365.
7. Galigian MD, Erlejan AG, Monte M, Gomez-Sanchez C, Piwien-Pilipuk G. The hsp90-FKBP52 complex links the mine-

- ralocorticoid receptor to motor proteins and persists bound to the receptor in early nuclear events. *Mol Cell Biol* 2010; 30(5): 1285-98.
8. Gambaryan S, Butt E, Tas P, Smolenski A, Allolio B, Walter U. Regulation of aldosterone production from zona glomerulosa cells by ANG II and cAMP: evidence for PKA-independent activation of CaMK by cAMP. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2006; 290(3): E423-E433.
 9. Dierks A, Lichtenauer UD, Sackmann S, Spyroglou A, Shapiro I, Geyer M, et al. Identification of adrenal genes regulated in a potassium-dependent manner. *J Mol Endocrinol* 2010; 45(4): 193-206.
 10. Hattangady NG, Olala LO, Bollag WB, Rainey WE. Acute and chronic regulation of aldosterone production. *Mol Cell Endocrinol* 2012; 350(2): 151-62.
 11. Hoover RS. Angiotensin II: a candidate for an aldosterone-independent mediator of potassium preservation during volume depletion. *Kidney Int* 2011; 79(4): 377-9.
 12. Farman N, Rafestin-Oblin ME. Multiple aspects of mineralocorticoid selectivity. *Am J Physiol Renal Physiol* 2001; 280(2): F181-F192.
 13. Chen C, Liang W, Jia J, van GH, Singhal PC, Ding G. Aldosterone induces apoptosis in rat podocytes: role of PI3-K/Akt and p38MAPK signaling pathways. *Nephron Exp Nephrol* 2009; 113(1): e26-e34.
 14. Patni H, Mathew JT, Luan L, Franki N, Chander PN, Singhal PC. Aldosterone promotes proximal tubular cell apoptosis: role of oxidative stress. *Am J Physiol Renal Physiol* 2007; 293(4): F1065-F1071.
 15. Brem AS, Morris DJ, Ge Y, Dworkin LD, Tolbert E, Gong R. Direct Fibrogenic Effects of Aldosterone on Normotensive Kidney: An Effect Modified by 11[beta]-HSD Activity. *Am J Physiol Renal Physiol* 2010.
 16. Queisser N, Oteiza PI, Stopper H, Oli RG, Schupp N. Aldosterone induces oxidative stress, oxidative DNA damage and NF-kappaB-activation in kidney tubule cells. *Mol Carcinog* 2011; 50(2): 123-35.
 17. Wehling M. Nongenomic aldosterone effects: the cell membrane as a specific target of mineralocorticoid action. *Steroids* 1995; 60(1): 153-56.
 18. Ngarmukos C, Grekin RJ. Nontraditional aspects of aldosterone physiology. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2001; 281(6): E1122-E1127.
 19. Christ M, Wehling M. Rapid actions of aldosterone: lymphocytes, vascular smooth muscle and endothelial cells. *Steroids* 1999; 64(1-2): 35-41.
 20. Christ M, Douwes K, Eisen C, Bechtner G, Theisen K, Wehling M. Rapid effects of aldosterone on sodium transport in vascular smooth muscle cells. *Hypertension* 1995; 25(1): 117-23.
 21. Grossmann C, Gekle M. Nongenotropic aldosterone effects and the EGFR: interaction and biological relevance. *Steroids* 2008; 73(9-10): 973-8.
 22. Heylen E, Huang A, Sun D, Kaley G. Nitric oxide-mediated dilation of arterioles to intraluminal administration of aldosterone. *J Cardiovasc Pharmacol* 2009; 54(6): 535-42.
 23. Grossmann C, Benesic A, Krug AW, Freudinger R, Mildemberger S, Gassner B, Gekle M. Human mineralocorticoid receptor expression renders cells responsive for nongenotropic aldosterone actions. *Mol Endocrinol* 2005; 19(7): 1697-710.
 24. Gros R, Ding Q, Sklar LA, Prossnitz EE, Arterburn JB, Chorzyczewski J, Feldman RD. GPR30 expression is required for the mineralocorticoid receptor-independent rapid vascular effects of aldosterone. *Hypertension* 2011; 57(3): 442-51.
 25. Grossmann C, Freudinger R, Mildemberger S, Husse B, Gekle M. EF domains are sufficient for nongenomic mineralocorticoid receptor actions. *J Biol Chem* 2008; 283(11): 7109-16.
 26. Min LJ, Mogi M, Li JM, Iwanami J, Iwai M, Horiuchi M. Aldosterone and angiotensin II synergistically induce mitogenic response in vascular smooth muscle cells. *Circ Res* 2005; 97(5): 434-42.
 27. Schmidt BM, Oehmer S, Delles C, Bratke R, Schneider MP, Klingbeil A, et al. Rapid nongenomic effects of aldosterone on human forearm vasculature. *Hypertension* 2003; 42(2): 156-60.
 28. Nietlispach F, Julius B, Schindler R, Bernheim A, Binkert C, Kiowski W, Brunner-La Rocca HP. Influence of acute and chronic mineralocorticoid excess on endothelial function in healthy men. *Hypertension* 2007; 50(1): 82-8.
 29. Chai W, Garrelds IM, Arulmani U, Schoemaker RG, Lamers JM, Danser AH. Genomic and nongenomic effects of aldosterone in the rat heart: why is spironolactone cardioprotective? *Br J Pharmacol* 2005; 145(5): 664-71.
 30. Leopold JA, Dam A, Maron BA, Scribner AW, Liao R, Handy DE, Stanton RC, et al. Aldosterone impairs vascular reactivity by decreasing glucose-6-phosphate dehydrogenase activity. *Nat Med* 2007; 13(2): 189-97.
 31. Sartorio CL, Fraccarollo D, Galuppo P, Leutke M, Ertl G, Stefanon I, Bauersachs J. Mineralocorticoid receptor blockade improves vasomotor dysfunction and vascular oxidative stress early after myocardial infarction. *Hypertension* 2007; 50(5): 919-25.
 32. Nishiyama A, Yao L, Nagai Y, Miyata K, Yoshizumi M, Kagami S, et al. Possible contributions of reactive oxygen species and mitogen-activated protein kinase to renal injury in aldosterone/salt-induced hypertensive rats. *Hypertension* 2004; 43(4): 841-8.
 33. Hayashi H, Kobara M, Abe M, Tanaka N, Gouda E, Toba H, et al. Aldosterone nongenomically produces NADPH oxidase-dependent reactive oxygen species and induces myocyte apoptosis. *Hypertens Res* 2008; 31(2): 363-75.
 34. Zhu X, Manning RD Jr, Lu D, Gomez-Sanchez CE, Fu Y, Juncos LA, Liu R. Aldosterone stimulates superoxide production in macula densa cells. *Am J Physiol Renal Physiol* 2011; 301(3): F529-F535.
 35. Iwashima F, Yoshimoto T, Minami I, Sakurada M, Hirono Y, Hirata Y. Aldosterone induces superoxide generation via Rac1 activation in endothelial cells. *Endocrinology* 2008; 149(3): 1009-14.
 36. Kopp JB, Klotman PE. Cellular and molecular mechanisms of cyclosporin nephrotoxicity. *J Am Soc Nephrol* 1990; 1(2): 162-79.
 37. de Mattos AM, Olyaei AJ, Bennett WM. Nephrotoxicity of immunosuppressive drugs: long-term consequences and challenges for the future. *Am J Kidney Dis* 2000; 35(2): 333-46.
 38. Feria I, Pichardo I, Juarez P, Ramirez V, Gonzalez MA, Uribe N, et al. Therapeutic benefit of spironolactone in experimental chronic cyclosporine A nephrotoxicity. *Kidney Int* 2003; 63(1): 43-52.
 39. Perez-Rojas JM, Derive S, Blanco JA, Cruz C, Martinez dLM, Gamba G, Bobadilla NA. Renocortical mRNA expression of vasoactive factors during spironolactone protective effect in chronic cyclosporine nephrotoxicity. *Am J Physiol Renal Physiol* 2005; 289(5): F1020-F1030.
 40. Perez-Rojas J, Blanco JA, Cruz C, Trujillo J, Vaidya VS, Uribe N, et al. Mineralocorticoid receptor blockade confers renoprotection in preexisting chronic cyclosporine nephrotoxicity. *Am J Physiol Renal Physiol* 2007; 292(1): F131-F139.
 41. Kelly KJ, Molitoris BA. Acute renal failure in the new millennium: time to consider combination therapy. *Semin Nephrol* 2000; 20(1): 4-19.
 42. Friedewald JJ, Rabb H. Inflammatory cells in ischemic acute renal failure. *Kidney Int* 2004; 66(2): 486-91.

43. Weight SC, Bell PR, Nicholson ML. Renal ischaemia-reperfusion injury. *Br J Surg* 1996; 83(2): 162-70.
44. Wu I, Parikh CR. Screening for kidney diseases: older measures versus novel biomarkers. *Clin J Am Soc Nephrol* 2008; 3(6): 1895-901.
45. Kelly KJ. Acute renal failure: much more than a kidney disease. *Semin Nephrol* 2006; 26(2): 105-13.
46. Ramesh G, Reeves WB. TNF-alpha mediates chemokine and cytokine expression and renal injury in cisplatin nephrotoxicity. *J Clin Invest* 2002; 110(6): 835-42.
47. Safdar A, Ma J, Saliba F, Dupont B, Wingard JR, Hachem RY, et al, Raad II. Drug-induced nephrotoxicity caused by amphotericin B lipid complex and liposomal amphotericin B: a review and meta-analysis. *Medicine (Baltimore)* 2010; 89(4): 236-44.
48. John R, Herzenberg AM. Renal toxicity of therapeutic drugs. *J Clin Pathol* 2009; 62(6): 505-15.
49. Taber SS, Pasko DA. The epidemiology of drug-induced disorders: the kidney. *Expert Opin Drug Saf* 2008; 7(6): 679-90.
50. Bonventre JV, Yang L. Cellular pathophysiology of ischemic acute kidney injury. *J Clin Invest* 2011; 121(11): 4210-21.
51. Mejia-Vilet JM, Ramirez V, Cruz C, Uribe N, Gamba G, Bobadilla NA. Renal ischemia-reperfusion injury is prevented by the mineralocorticoid receptor blocker spironolactone. *Am J Physiol Renal Physiol* 2007; 293(1): F78-F86.
52. Ramirez V, Trujillo J, Valdes R, Uribe N, Cruz C, Gamba G, Bobadilla NA. Adrenalectomy prevents renal ischemia-reperfusion injury. *Am J Physiol Renal Physiol* 2009; 297(4): F932-F942.
53. Sánchez-Pozos K, Barrera-Chimal J, Garzón-Muvdi J, Pérez-Villalva R, Rodríguez-Romo R, Cruz C, et al. Recovery from ischemic acute kidney injury by spironolactone administration. *Nephrol Dial Transplant* 2012; 27(8): 3160-69.
54. Mayer B, Schmidt K, Humbert P, Bohme E. Biosynthesis of endothelium-derived relaxing factor: a cytosolic enzyme in porcine aortic endothelial cells Ca²⁺-dependently converts L-arginine into an activator of soluble guanylyl cyclase. *Biochem Biophys Res Commun* 1989; 164(2): 678-85.
55. Palmer RM, Moncada S. A novel citrulline-forming enzyme implicated in the formation of nitric oxide by vascular endothelial cells. *Biochem Biophys Res Commun* 1989; 158(1): 348-52.
56. Stuehr DJ. Mammalian nitric oxide synthases. *Biochim Biophys Acta* 1999; 1411(2-3): 217-30.
57. Cooke JP, Singer AH, Tsao P, Zera P, Rowan RA, Billingham ME. Antiatherogenic effects of L-arginine in the hypercholesterolemic rabbit. *J Clin Invest* 1992; 90(3): 1168-72.
58. Martin ER, Marsden PA, Brenner BM, Ballermann BJ. Identification and characterization of endothelin binding sites in rat renal papillary and glomerular membranes. *Biochem Biophys Res Commun* 1989; 162(1): 130-7.
59. Stroes E, Hijmering M, van ZM, Wever R, Rabelink TJ, van Faassen EE. Origin of superoxide production by endothelial nitric oxide synthase. *FEBS Lett* 1998; 438(3): 161-4.
60. Cortes-Gonzalez CC, Ramirez-Gonzalez V, Ariza AC, Bobadilla NA. Functional significance of heat shock protein 90. *Rev Invest Clin* 2008; 60(4): 311-20.
61. Boo YC, Jo H. Flow-dependent regulation of endothelial nitric oxide synthase: role of protein kinases. *Am J Physiol Cell Physiol* 2003; 285(3): C499-C508.
62. Lee DL, Sasser JM, Hobbs JL, Boriskie A, Pollock DM, Carmine PK, Pollock JS. Posttranslational regulation of NO synthase activity in the renal medulla of diabetic rats. *Am J Physiol Renal Physiol* 2005; 288(1): F82-F90.
63. Mount PF, Fraser SA, Watanabe Y, Lane N, Katsis F, Chen ZP, et al. Phosphorylation of neuronal and endothelial nitric oxide synthase in the kidney with high and low salt diets. *Nephron Physiol* 2006; 102(2): 36-50.
64. Nagata D, Takahashi M, Sawai K, Tagami T, Usui T, Shimatsu A, et al. Molecular Mechanism of the Inhibitory Effect of Aldosterone on Endothelial NO Synthase Activity. *Hypertension* 2006.
65. Atochin DN, Wang A, Liu VW, Critchlow JD, Dantas AP, Looft-Wilson R, et al. The phosphorylation state of eNOS modulates vascular reactivity and outcome of cerebral ischemia in vivo. *J Clin Invest* 2007; 117(7): 1961-7.
66. Kosugi T, Heinig M, Nakayama T, Matsuo S, Nakagawa T. eNOS knockout mice with advanced diabetic nephropathy have less benefit from renin-angiotensin blockade than from aldosterone receptor antagonists. *Am J Pathol* 2010; 176(2): 619-29.
67. Godfrey V, Martin AL, Struthers AD, Lyles GA. Effects of aldosterone and related steroids on LPS-induced increased expression of inducible NOS in rat aortic smooth muscle cells. *Br J Pharmacol* 2011; 164(8): 2003-14.
68. Yanagisawa M, Kurihara H, Kimura S, Tomobe Y, Kobayashi M, Mitsui Y, et al. A novel potent vasoconstrictor peptide produced by vascular endothelial cells. *Nature* 1988; 332(6163): 411-15.
69. Russell FD, Davenport AP. Secretory pathways in endothelin synthesis. *Br J Pharmacol* 1999; 126(2): 391-98.
70. Brunner F, Bras-Silva C, Cerdeira AS, Leite-Moreira AF. Cardiovascular endothelins: essential regulators of cardiovascular homeostasis. *Pharmacol Ther* 2006; 111(2): 508-31.
71. Nguyen TD, Vequaud P, Thorin E. Effects of endothelin receptor antagonists and nitric oxide on myogenic tone and alpha-adrenergic-dependent contractions of rabbit resistance arteries. *Cardiovasc Res* 1999; 43(3): 755-61.
72. Rubanyi GM, Polokoff MA. Endothelins: molecular biology, biochemistry, pharmacology, physiology, and pathophysiology. *Pharmacol Rev* 1994; 46(3): 325-415.
73. Kedzierski RM, Yanagisawa M. Endothelin system: the double-edged sword in health and disease. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 2001; 41: 851-76.
74. Masaki T. Possible role of endothelin in endothelial regulation of vascular tone. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 1995; 35: 235-55.
75. Lehrke I, Waldherr R, Ritz E, Wagner J. Renal endothelin-1 and endothelin receptor type B expression in glomerular diseases with proteinuria. *J Am Soc Nephrol* 2001; 12(11): 2321-9.
76. Thorin E, Webb DJ. Endothelium-derived endothelin-1. *Pflügers Arch* 2010; 459(6): 951-8.
77. Strachan FE, Spratt JC, Wilkinson IB, Johnston NR, Gray GA, Webb DJ. Systemic blockade of the endothelin-B receptor increases peripheral vascular resistance in healthy men. *Hypertension* 1999; 33(1, Pt. 2): 581-85.
78. Kinlay S, Behrendt D, Wainstein M, Beltrame J, Fang JC, Creager MA, et al. Role of endothelin-1 in the active constriction of human atherosclerotic coronary arteries. *Circulation* 2001; 104(10): 1114-8.
79. Boulanger C, Luscher TF. Release of endothelin from the porcine aorta. Inhibition by endothelium-derived nitric oxide. *J Clin Invest* 1990; 85(2): 587-90.
80. King AJ, Pfeffer JM, Pfeffer MA, Brenner BM. Systemic hemodynamic effects of endothelin in rats. *Am J Physiol* 1990; 258(3, Pt. 2): H787-H792.
81. Gilbert P, Thorin E. Endothelin-1 limits vascular smooth muscle beta-adrenergic receptor sensitivity by a PKC-dependent pathway. *J Cardiovasc Pharmacol* 2003; 42(4): 534-8.
82. Okajima M, Parent R, Thorin E, Lavalée M. Pathophysiological plasma ET-1 levels antagonize beta-adrenergic dilation of coronary resistance vessels in conscious dogs. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2004; 287(4): H1476-H1483.

83. Sauvageau S, Thorin E, Villeneuve L, Dupuis J. Change in pharmacological effect of endothelin receptor antagonists in rats with pulmonary hypertension: role of ETB-receptor expression levels. *Pulm Pharmacol Ther* 2009; 22(4): 311-7.
84. Herrera M, Garvin JL. A high-salt diet stimulates thick ascending limb eNOS expression by raising medullary osmolality and increasing release of endothelin-1. *Am J Physiol Renal Physiol* 2005; 288(1): F58-F64.
85. Stow LR, Gumz ML, Lynch IJ, Greenlee MM, Rudin A, Cain BD, Wingo CS. Aldosterone modulates steroid receptor binding to the endothelin-1 gene (edn1). *J Biol Chem* 2009; 284(44): 30087-96.
86. Nguyen Dinh CA, Griol-Charhbili V, Loufrani L, Labat C, Benjamin L, Farman N, et al. The endothelial mineralocorticoid receptor regulates vasoconstrictor tone and blood pressure. *FASEB J* 2010; 24(7): 2454-63.
87. Leung T, Chen XQ, Manser E, Lim L. The p160 RhoA-binding kinase ROK alpha is a member of a kinase family and is involved in the reorganization of the cytoskeleton. *Mol Cell Biol* 1996; 16(10): 5313-27.
88. Amano M, Ito M, Kimura K, Fukata Y, Chihara K, Nakano T, et al. Phosphorylation and activation of myosin by Rho-associated kinase (Rho-kinase). *J Biol Chem* 1996; 271(34): 20246-9.
89. Kawano Y, Fukata Y, Oshiro N, Amano M, Nakamura T, Ito M, et al. Phosphorylation of myosin-binding subunit (MBS) of myosin phosphatase by Rho-kinase in vivo. *J Cell Biol* 1999; 147(5): 1023-38.
90. van Nieuw Amerongen GP, van DS, Vermeer MA, Collard JG, van Hinsbergh VW. Activation of RhoA by thrombin in endothelial hyperpermeability: role of Rho kinase and protein tyrosine kinases. *Circ Res* 2000; 87(4): 335-40.
91. Martinez MC, Randriamboavonjy V, Ohlmann P, Komar N, Duarte J, Schneider F, et al. Involvement of protein kinase C, tyrosine kinases, and Rho kinase in Ca(2+) handling of human small arteries. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2000; 279(3): H1228-H1238.
92. Sun GP, Kohno M, Guo P, Nagai Y, Miyata K, Fan YY, et al. Involvements of rho-kinase and tgf-Beta pathways in aldosterone-induced renal injury. *J Am Soc Nephrol* 2006; 17(8): 2193-201.
93. Nishikimi T, Matsuoka H. Molecular mechanisms and therapeutic strategies of chronic renal injury: renoprotective effect of rho-kinase inhibitor in hypertensive glomerulosclerosis. *J Pharmacol Sci* 2006; 100(1): 22-8.
94. Versteilen AM, Korstjens IJ, Musters RJ, Groeneveld AB, Sipkema P. Rho kinase regulates renal blood flow by modulating eNOS activity in ischemia-reperfusion of the rat kidney. *Am J Physiol Renal Physiol* 2006; 291(3): F606-F611.
95. Miyata K, Hitomi H, Guo P, Zhang GX, Kimura S, Kiyomoto H, et al. Possible involvement of Rho-kinase in aldosterone-induced vascular smooth muscle cell remodeling. *Hypertens Res* 2008; 31(7): 1407-13.
96. Sanchez-Pozos K, Barrera-Chimal J, Garzon-Muvdi J, Perez-Villalva R, Rodriguez-Romo R, Cruz C, et al. Recovery from ischemic acute kidney injury by spironolactone administration. *Nephrol Dial Transplant* 2012.
97. Doi T, Sakoda T, Akagami T, Naka T, Mori Y, Tsujino T, et al. Aldosterone induces interleukin-18 through endothelin-1, angiotensin II, Rho/Rho-kinase, and PPARs in cardiomyocytes. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2008; 295(3): H1279-H1287.
98. Fujimura N, Noma K, Hata T, Soga J, Hidaka T, Idei N, et al. Mineralocorticoid receptor blocker eplerenone improves endothelial function and inhibits Rho-associated kinase activity in patients with hypertension. *Clin Pharmacol Ther* 2012; 91(2): 289-97.
99. Bianchi S, Bigazzi R, Campese VM. Antagonists of aldosterone and proteinuria in patients with CKD: an uncontrolled pilot study. *Am J Kidney Dis*; 46(1): 45-51.
100. Bertocchio JP, Jaissier F. Aldosterone and kidney diseases: an emergent paradigm with important clinical implications. *Nephrol Ther* 2011; 7(3): 139-47.
101. Chrysostomou A, Pedagogos E, MacGregor L, Becker GJ. Double-Blind, Placebo-Controlled Study on the Effect of the aldosterone receptor antagonist spironolactone in patients who have persistent proteinuria and are on long-term angiotensin-converting enzyme inhibitor therapy, with or without an angiotensin II receptor blocker. *Clin J Am Soc Nephrol* 2006; 1: 256-62.
102. Nielsen SE, Persson F, Frandsen E, Sugaya T, Hess G, Zdunek D, et al. Spironolactone diminishes urinary albumin excretion in patients with type 1 diabetes and microalbuminuria: a randomized placebo-controlled crossover study. *Diabet Med* 2012.

Reimpresos:

Dra. Norma A. Bobadilla

Unidad de Fisiología Molecular
 Instituto Nacional de Ciencias Médicas y
 Nutrición Salvador Zubirán e
 Instituto de Investigaciones Biomédicas, UNAM
 Vasco de Quiroga, Núm. 15
 14080, México, D.F.
 Tel.: 5255 5485-2676
 Fax: 5255 5655-0382
 Correo electrónico: nab@biomedicas.unam.mx,
 norma.bobadillas@quetzal.innsz.mx

Recibido el 27 de febrero 2012.

Aceptado 19 de julio 2012.