

Revisão/Atualização em Fisiologia e Fisiopatologia Renal: Efeito da interação hormonal ao longo do néfron

Maria Oliveira de Souza, Margarida de Mello Aires

Departamento de Fisiologia e Biofísica
Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo
Endereço para correspondência: Maria Oliveira de Souza
Av. Prof. Lineu Prestes, 1524, 1º andar, Sala 229
CEP: 05508-900 São Paulo, SP.
Tel.: (011) 818-7241 Fax: (011) 818-7285

Introdução

A manutenção do pH intracelular (pHi) contribui de forma relevante para a fisiologia da proliferação celular.^{1,2} Sua regulação depende de mecanismos que envolvem tanto os transportadores iônicos localizados na membrana plasmática (Na^+/H^+ , H^+/K^+ ATPase, $\text{Cl}^-/\text{HCO}_3^-$, $\text{Na}^+/\text{HCO}_3^-$) como os tampões intracelulares.³

Estudos realizados ao longo do néfron revelam que praticamente todo bicarbonato (HCO_3^-) filtrado é reabsorvido através do mecanismo de secreção de H^+ , sendo que grande parte desse processo ocorre no túbulo proximal e segmento grosso ascendente da alça de Henle.^{4,5} O néfron distal também é capaz de reabsorver e secretar bicarbonato, dependendo das condições ácido-base.^{6,7,8} A maioria dos segmentos que compõem o néfron distal, possui células intercalares, ricas em mitocôndrias e anidrase carbônica, que são responsáveis pela acidificação tubular.⁹ As células intercalares do tipo a possuem uma H^+/K^+ ATPase do tipo vacuolar e uma H^+/K^+ ATPase do tipo gástrica, ambas inseridas na membrana luminal e o trocador $\text{Cl}^-/\text{HCO}_3^-$, do tipo banda 3, localizado na membrana basolateral. Por outro lado, as células intercalares do tipo b apresentam polaridade oposta para a H^+/K^+ ATPase e para o trocador $\text{Cl}^-/\text{HCO}_3^-$.^{10,11}

Muitos são os hormônios que induzem a regulação do pHi nos vários segmentos do néfron, por estimular a secreção de H^+ e reabsorção de HCO_3^- . Entre os mais importantes podemos citar o Hormônio Antidiurético (ADH), Angiotensina II (ANG II), Peptídeo Atrial Natriurético (ANP), Paratormônio e Glucagon. Entretanto, na presente revisão, discutiremos a interação entre o ADH e o ANP sobre a modulação do pHi ao longo do néfron.

Hormônio Antidiurético

O ADH participa dos mecanismos envolvidos na acidificação do fluido tubular. Em rim de rato, o ADH inibe a absorção de bicarbonato no segmento grosso ascendente da alça de Henle e estimula a secreção de próton no túbulo distal e ducto coletor.¹² Estudos realizados no segmento grosso da alça de Henle também revelam que o ADH estimula o trocador $\text{Cl}^-/\text{HCO}_3^-$, o co-transporte $\text{Na}^+/\text{K}^+/\text{2Cl}^-$ e a condutância a Cl^- via AMPc.¹³ Em baixa dose (10^{-12}M), o ADH estimula o trocador Na^+/H^+ basolateral e em dose elevada (10^{-6}M) inibe o trocador.^{14,15} Portanto, seu efeito é dose-dependente e a resposta depende de sua interação com receptores específicos, que são classificados em V_1 (a e b) e V_2 , encontrados principalmente no néfron distal e acoplados à proteína G.^{16,17,18,19}

Recentemente, estudos realizados com ADH no segmento grosso ascendente da alça de Henle e ducto coletor cortical de coelho e rato, indicam que os receptores V_{1a} podem atuar tanto na membrana luminal como na basolateral.^{16,18,19} Entretanto, os receptores V_2 são mais evidentes na membrana basolateral do ducto coletor cortical, cultura celular do túbulo coletor papilar e ducto medular interno de rato^{19,20,21} e células LLpK₁.¹⁷

O ADH em dose fisiologicamente ativa (10^{-12}M), liga-se a receptores do tipo V_1 e via ativação da fosfolipase C (PLC) promove a elevação dos níveis da $[\text{Ca}^{++}]_i$ e aumenta a atividade da proteína kinase C (PKC).^{20,21,22} A ativação da PKC estimula o trocador Na^+/H^+ .²³ Em concentrações elevadas, o ADH liga-se também a receptores do tipo V_1 e via PLC, inositol trifosfato (IP_3) e diacilglicerol (DAG) ou via fosfolipase A_2 (PLA_2) e ácido aracdônico (AA), eleva mais ainda a $[\text{Ca}^{++}]_i$.¹⁶ A elevação da $[\text{Ca}^{++}]_i$ reduz a atividade do trocador Na^+/H^+ .²⁴ Em doses elevadas, o ADH liga-se também a receptores do tipo V_2 para ativar a adenilciclase (AC) aumentando os níveis da AMPc. Em altos níveis, o AMPc pode reduzir a atividade do trocador Na^+/H^+ e ativar o trocador $\text{Na}^+/\text{Ca}^{++}$ na membrana celular.²⁵

Peptídeo Atrial Natriurético

O ANP participa das várias atividades fisiológicas do organismo. Entre elas, a inibição da liberação de renina, aldosterona e hormônio antidiurético.²⁶ Além disso, é um potente natriurético causando aumento do Rítmo de Filtração Glomerular e da excreção renal de água e de outros eletrólitos.²⁷

De acordo com dados da literatura, o ANP inibe os transportadores Na^+/H^+ e $\text{Na}^+-\text{HCO}_3^-$ no túbulo proximal de rato²⁷ e apresenta um efeito dose-dependente, sobre a inibição do trocador Na^+/H^+ em células do músculo liso de aorta.²⁸ Sua atividade depende principalmente da interação com receptores classificados em 3 tipos: A, B e C.^{27,29,30} Os do tipo A são os biologicamente mais ativos e estão presentes seletivamente nas células epiteliais glomerulares e nas do ducto coletor da medula interna.³¹ Os receptores do tipo B, ou guanilato ciclase, são também responsáveis pelos efeitos funcionais do hormônio e apresentam como segundo mensageiro o GMPc. Os receptores C não medeiam qualquer efeito biológico do hormônio, mas têm papel na remoção do ANP da circulação, daí o nome de receptores de *clearance*. Funcionam como um sistema tamponante hormonal, impedindo que ocorra grandes flutuações dos níveis plasmáticos de ANP.³²

Técnicas auto-radiográficas revelam que os receptores para ANP são abundantes no córtex renal de ratos³³ e no glomérulo.³⁴ Em túbulos isolados de rins de rato, foi verificado que o ANP induz um aumento significativo do GMPc em praticamente todos os segmentos do néfron proximal e distal, localizados acima do ducto coletor.³⁵ O ANP, após ligar-se a seu receptor, promove ativação da guanil ciclase na membrana, levando à conversão do GTP em GMPc. Este por sua vez, diminui a $[\text{Ca}^{++}]_i$ (por inibir a atividade da PLC e por estimular a Ca^{++} -ATPase do retículo sarcoplasmático^{35,36,37,38}) e reduz o AMPc (estimulando canais de Na^+ e a atividade dos trocadores $\text{Na}^+/\text{Ca}^{++}$ e Na^+/H^+). Recentemente foi demonstrado, através de estudos em cultura de células principais do ducto coletor, que a produção de GMPc estimulada por ANP é dose-dependente, em baixa dose (10^{-12}M) de ANP, os níveis de GMPc ainda não estão alterados, enquanto que em dose elevada (10^{-6}M) de ANP, aumenta significativamente.³⁹

Interação Hormonal

Trabalhos anteriores de nosso Laboratório demonstram que o ANP inibe o efeito estimulador da ANG II sobre a reabsorção de HCO_3^- no túbulo proximal de rato.⁴⁰ Por outro lado, Yashikawa e cols.,⁴¹ estudando células do túbulo coletor de rato, demonstraram que o ANP reduz tanto a síntese da

AMPc como a $[\text{Ca}^{++}]_i$ estimuladas por ADH. Dessa forma, o ANP parece interferir na ação do ADH sobre os transportadores Na^+/H^+ e $\text{Na}^+-\text{HCO}_3^-$.

Com o propósito de continuar estudando os mecanismos envolvidos com essa interação hormonal, estamos avaliando o papel do ADH e ANP na modulação do pH_i . Para tanto, utilizamos a técnica de microscopia de fluorescência para medir o pH_i de células MDCK (Madin-Darby *canine kidney*), linhagem permanente derivada do rim de cão e que apresenta propriedades morfofuncionais estáveis, semelhantes ao néfron distal.⁴² Nossos resultados atuais demonstram que o ADH na dose de (10^{-12}M) estimula o trocador Na^+/H^+ e em dose mais elevada (10^{-6}M), inibe a atividade do trocador. O ANP em dose elevada (10^{-6}M) reduz tanto o efeito estimulador como o inibitório do ADH.

Conclusão

O ADH e o ANP interagem na modulação do pH_i , estimulando ou inibindo a atividade dos transportadores envolvidos nesse processo. O efeito dessa interação hormonal é dose-dependente e parece se fazer através da variação dos níveis intracelulares de Ca^{++} , AMPc e GMPc.

Referências

1. Mahnensmith RL, Aronson PS. The plasma membrane sodium-hydrogen exchange and its role in physiological and pathophysiological processes. *Circ Res.* 1985; 57: 773-778
2. Aalkjaer C. Regulation of intracellular pH and its role in vascular smooth muscle function. *J Hypertens.* 1990; 8: 197-206
3. Kahn AM, Cragoe Jr EJ, Allen JC, Halligan RD, Shelat H. Na^+/H^+ and Na^+ -dependent $\text{Cl}^-/\text{HCO}_3^-$ exchange control pH_i in vascular smooth muscle. *Am J Physiol.* 1990; 259: C134-C143
4. Rector Jr FC. Sodium, bicarbonate and chloride absorption by proximal tubule. *Am J Physiol.* 1983; 244: 462-471
5. Dood DW. Adaptation of HCO_3^- and NH_4^+ transport in rat MTAL: effects of chronic metabolic acidosis and Na^+ intake. *Am J Physiol.* 1990; 27: F1345-F1353.
6. Barreto-Chaves MLM, Mello-Aires M. Effect of luminal angiotensin II and ANP on early and late cortical distal tubule HCO_3^- reabsorption. *Am J Physiol.* 1996; 271: F977-F984
7. Fernandez R, Malnic G. Secretion of $\text{HCO}_3^-/\text{OH}^-$ in cortical distal tubule of the rat. *J Membr Biol.* 1995; 143: 227-235
8. Wesson DE, Dolson GM, Babino H. Augmented bidirectional HCO_3^- transport by rat distal tubules in chronic alkalosis. *Am J Physiol.* 1991; 261: F308-F317

9. Schuster VL. Function and regulation of collecting duct intercalated cells. *Annu Rev Physiol.* 1993; 55: 267-288
10. Capasso G, Malnic G, Wang T, Giebisch G. Acidification in mammalian cortical distal tubule. *Kidney Int.* 1994; 45: 1543-1554
11. Bastani B. Colocalization of H⁺-ATPase and H⁺,K⁺-ATPase immunoreactivity in the rat kidney. *J Am Soc Nephrol.* 1995; 5: 1476-1482
12. Bichara M, Mercier O, Houillier P, Paillard M, Leviel F. Effects of antidiuretic hormone on urinary acidification and on tubular handling of bicarbonate in the rat. *J Clin Invest.* 1987; 80: 621-630
13. Greger R. Ion transport mechanisms in thick ascending limb of Henle's loop of mammalian nephron. *Physiol Rev.* 1985; 65: 760-797
14. Casavola V, Reshkin SJ, Murer H, Helmle-kolb C. Polarized expression of Na⁺/H⁺ exchange activity in LLCpK₁/PKE 20 cells. II Hormonal regulation. *Pflugers Arch.* 1992; 420:282-289
15. Sun AM, Kikeri D, Hebert SC. Vasopressin regulates apical and basolateral Na⁺/H⁺ antiports in mouse medullary thick ascending limbs. *Am J Physiol.* 1992; 262: F241-F247
16. Burgess WJ, Balment RJ, Beck JS. Effects of luminal vasopressin on intracellular calcium in microperfused rat medullary thick ascending limb. *Renal Physiol Biochem.* 1994; 17: 1-9
17. Tang MJ, Weinberg JM. Vasopressin-induced increases of cytosolic calcium in LLC-pK1 cells. *Am J Physiol.* 1986; 251: F1090-F1093
18. Ammar AS, Roseau S, Butlen D. Pharmacological characterization of V1a vasopressin receptors in the rat cortical collecting duct. *Am J Physiol.* 1992; 262: F546-F553
19. Yoshitomi K, Naruse M, Hanaoka K, Yamamura Y, Imai M, Kurokawa K. Functional characterization of vasopressin V₁ and V₂ receptors in the rabbit renal cortical collecting duct. *Kidney Int.* 1996; 49 (suppl 55): S177-S182
20. Ishikawa S, Okada K, Saito T. Arginine vasopressin increase cellular free calcium concentration and adenosine 3'5'-monophosphate production in rat renal papillary collecting tubule cells in culture. *Endocrinology.* 1988; 123: 1376-1384
21. Star RA, Nonoguchi H, Balaban R, Knepper MA. Calcium and cyclic adenosine monophosphate as second messenger for vasopressin in the rat inner medullary collecting duct. *J Clin Invest.* 1988; 81: 1879-1888
22. Tereda Y, Tomita K, Nonoguchi H, Yang T, Maruno F. Different localization and regulation of two types of vasopressin receptor messenger RNA in microdissected rat nephron segments using reverse transcription polymerase chain reaction. *J Clin Invest.* 1993; 92: 2339-2345
23. Vilella S, Guerra L, Helmle-Kolb C, Murer H. Characterization of basolateral Na⁺/H⁺ exchange (NH1) in MDCK cells. *Pflugers Arch.* 1992; 42: 275-281
24. Douglas JG, Hopfer U. Novel aspect of angiotensin receptors and signal transduction in the kidney. *Annu Rev Physiol.* 1994; 56: 649-669
25. Breyer MD, Fredin D. Cyclic AMP regulates intracellular sodium concentration Na⁺ in rabbit cortical collecting duct (CCD). *Am J Soc Nephrol.* 1991; 2(3): 732
26. Atlas SA. Atrial natriuretic factor; a new hormone of cardiac origin. *Recent Prog Horm Res* 1986; 42: 207-247
27. Brenner BM, Ballermann BJ, Gunning ME, Zeidel ML. Diverse biological actions of atrial natriuretic peptide. *Physiol Rev.* 1990; 70:665-699
28. Ricci R, Baldini P, Bogetto L, De Vito P, Luly P, Zannetti A, Incerpi S. Dual modulation of Na⁺/H⁺ antiporter by atrial natriuretic factor in rat aortic smooth muscle cells. *Am J Physiol.* 1997; 273: C643-C652
29. Hamond TG, Yusufi ANK, Knox FG, Dousa TP. Administration of atrial natriuretic factor inhibits sodium coupled transport in proximal tubule. *J Clin Invest.* 1985; 75: 1983-1989
30. Maack T, Suzuki M, Almeida FA, Nussenzweig D, Scarborough M, McEnroe GA, Lewicki JA. Physiological role of silent receptors of atrial natriuretic factor. *Science.* 1987; 238:675-678
31. Yamamoto T, Feng I, Mizuno T, Hirose SK, Yaoita E, Kihara I, Wilson CB. expression of mRNA for natriuretic peptide receptor subtypes in bovine kidney. *Am J Physiol.* 1994; 267: F318-F324
32. Cogan MG. Atrial natriuretic factor can increase renal solute excretion primarily by raising glomerular filtration. *Am J Physiol.* 1986; 25: F710-F715
33. Yip CC, Laing LP, Flynn TG. Phitoaffinity labeling of atrial natriuretic factor receptors of rat kidney cortex plasma membrane. *J Biol Chem.* 1985; 260: 8229-8232
34. Ballermann BJ, Hoover RL, Karnovsky MJ, Brenner BM. Physiological regulation of atrial natriuretic peptide receptors in rat renal glomeruli. *J Clin Invest.* 1985; 76: 2049-2056
35. Nonoguchi H, Knepper MA, Mangamello VC. Effects of atrial natriuretic factor on cyclic guanosine monophosphate in microdissected nephron segments from rats. *J Clin Invest.* 1987; 79: 500-507
36. Caramelo C, Lopez-Farré A, Riesco A, Oliveira A, Okada K, Cragoe Jr EJ, Tsai P, Briner VA, Schrier RW. Atrial natriuretic peptide and cGMP inhibit Na⁺/H⁺ antiporter in vascular smooth muscle cells in culture. 1994; 45: 66-75
37. Anand-Srivastava MB, Catin M. Atrial natriuretic factor receptors are negatively coupled to adenylyl cyclase in cultured atrial and ventricular cardiocytes. *Biochem Biophys Res Comm.* 1986; 138: 427-436
38. Gomes GN, Souza MO, Vecchia M, Oshiro MEM, Ferreira AT, Mello-Aires M. Atrial natriuretic peptide modulates the effect of angiotensin II on the concentration of free calcium in the cytosol of Mardin-Darby canine kidney cells. *Braz J Med Biol Res.* 1995; 28: 609-613
39. Millul V, Prié D, Géniteau-Legendre M, Verpont MC, Baudouin B, Ronco PM. ANP-stimulated cGMP regression in renal

- pincipal cells: abrogation of polarity by SV40 large T. Am J Physiol. 1996; 270: C1051-1060
40. Gomes GN, Mello-Aires M. interaction of atrial natriuretic factor and angiotensin II in proximal HCO_3^- reabsorption. Am J Physiol. 1992; 262: F303-F308
 41. Ishikawa S, Saito T, Okada K, Kuzuya T, Kangawa K, Matsuo H. Atrial natriuretic factor increases cyclic GMP and inhibits cyclic AMP in rat papillary collecting tubules cells in culture. Biochem Biophys Res Comm. 1985; 130: 1147-1153
 42. Gekle M, Wunsch S, Oberleithner H, Silbernagl S. Characterization of two MDCK-Cell subtypes as a model system to study principal cell and intercalated cell properties. Pflugers Arch. 1994; 428: 157-162