

Comportamiento renal del magnesio Su implicación en la regulación de la presión arterial

Patrick Wagner Grau*.

Implicado en numerosos procesos biológicos, el ión magnesio, Mg ++, desempeña un rol primordial en la vida de los organismos vivientes (biósfera). Participa, principalmente, en la activación de diversas enzimas, gracias a sus características fisicoquímicas, las que le permiten crear complejos ternarios muy estables, como por ejemplo con los nucleótidos, que activan los procesos de fosforilación. A este respecto, constituye el Mg++, uno de los elementos esenciales del medio interno.

Como para todo el resto de los constituyentes del medio interno, que adaptan su excreción a las fluctuaciones de los aportes cotidianos, es –naturalmente– el riñón quien mantiene el equilibrio u homeostasis del balance de Mg++. No obstante, la exacta naturaleza de los factores hormonales y no hormonales, implicados en dicha regulación, se nos escapa aún. Esta situación no es, paradójicamente, consecuencia de la carencia de observaciones en este campo, sino, por el contrario, proviene, en gran parte, del sinnúmero de datos que no nos permite asignar a tal o cual factor un preciso rol regulador. Sucede, en realidad, con el magnesio, lo mismo que con el resto de los constituyentes iónicos; en efecto, se puede hoy precisar con exactitud la naturaleza y el grado de implicación de los elementos que intervienen en la regulación del balance de sodio, de cloro y de potasio.

En esta breve revisión, trataremos de examinar el comportamiento renal del Mg++ y, luego, la influencia de diversos factores, tanto no hormonales como hormonales, sobre la excreción renal de este ión.

A consecuencia de los trabajos de Brown y su equipo (6), diversos estudios han revelado la presencia, en la membrana plasmática o en el citoplasma de las células-blancas, de receptores sensibles a los solutos extracelulares: desempeñarían un rol, al igual que las hormonas, de primeros mensajeros. Existen tales receptores, sensibles al calcio, en las membranas baso laterales de las células epiteliales renales (7), cuyo gen ha sido clonado en la rata (8). Diversos índices funcionales permiten plantear la existencia, en ciertos segmentos del nefrón, de receptores sensibles al sodio (9), a la úrea (10), y, también, de receptores sensibles al magnesio a los que acordaremos una especial atención. Abordaremos,

por fin, el análisis más general del control hormonal múltiple de los epitelios renales, responsables de la regulación del medio interno. El análisis del comportamiento renal del magnesio y de su control permite, en efecto, plantearse la cuestión del reconocimiento de los factores que colocan al epitelio en la configuración requerida para cumplir, de manera selectiva, su función reguladora frente a tal o cual especie iónica, independientemente de las otras (11), (12). Sin hallarnos aún en condiciones de resolver el intrincado complejo de los múltiples factores de regulación, susceptibles de intervenir en esta función altamente integrada, nos permitiremos indicar nuevas pistas que pudieran, en un futuro próximo, ponernos sobre la vía de la solución.

ANÁLISIS SEGMENTARIO DEL TRANSPORTE DE Mg.

Filtración glomerular y transporte proximal (5)

Alrededor del 70% del magnesio plasmático circula bajo una forma que es ultrafiltrable por las membranas glomerulares. La fracción restante forma complejos con los iones citrato, oxalato o fosfato o está ligada a proteínas no ultra-filtrables. Se encuentra en la orina, según las circunstancias, entre el 5 y el 20% del magnesio ultrafiltrado.

Cualquiera que sea la especie animal considerada, el túbulo proximal sólo transporta, en el adulto, una pequeña cantidad, de alrededor del 10 – 15%, del magnesio que llega hasta él. Esta limitada capacidad de transporte es consecuencia de la escasa permeabilidad al magnesio de la vía paracelular de este epitelio y, con mucha probabilidad, de la pequeña densidad, o incluso de la ausencia, de sistemas de transporte en las membranas de las células proximales. En el animal joven, en cambio, parece que el túbulo proximal es capaz de resorber entre el 50 y el 60% del magnesio filtrado, vale decir, un porcentaje equivalente al del sodio o del agua. Esta resorción fraccionaria decrece con la edad mientras que la del sodio y del agua se hallan ya definitivamente establecidas.

ASA DE HENLE (5)

A lo largo de los nefrones superficiales, asequibles a la micropunción, más del 60% del magnesio filtrado es resorbido en el asa de Henle. Este transporte neto resulta esencialmente de la actividad de la rama ascendente ancha. En la

* Médico Internista - Nefrólogo.

extremidad de las asas de Henle de los nefrones más largos, asequible en la superficie de la papila en la rata joven, el débito fraccionario de magnesio que llega es sensiblemente igual al del túbulo proximal, lo que sugiere ausencia de movimientos netos de este ión a lo largo de los segmentos de la rama descendente del asa.

Sin embargo, no es posible excluir la existencia de intercambios entre estos dos sitios anatómicos, pues en la rata, después de una sobrecarga de magnesio, o también en un roedor del desierto (*Psammomys obesus*), ha podido verse la adición de magnesio en el fluido que llega a la extremidad de estas asas largas. La importancia cuantitativa de la resorción, en el asa de Henle, está dada por la correlación que liga al débito de magnesio que llega del asa de Henle al túbulo distal y el débito de magnesio excretado por el riñón. Dicho de otro modo, toda variación de la resorción en el asa se traduce por una modificación de la excreción de magnesio.

RAMA ASCENDENTE ANCHA: SEGMENTO CORTICAL

En razón de su facilidad de obtención por microdissección, los segmentos corticales y medulares de la rama ascendente ancha han sido particularmente bien estudiados, gracias a las técnicas de microperfusión in vitro.

En la rata y el conejo, el flujo de resorción de magnesio es muy elevado en la porción cortical. Su intensidad está ligada al valor de la diferencia de potencial, que es generalmente de alrededor de +12 a +15 mV en condiciones normales en la rata (luz positiva con relación al baño). El segmento cortical de la rama ascendente ancha desempeña, pues, un rol primordial en el control del balance de este ión ya que es, finalmente, él quien es directamente responsable de la tasa de excreción renal de magnesio puesto que los segmentos terminales del nefrón sólo desempeñan un rol de ajuste menor, dada la pequeña amplitud de los flujos, como lo señalaremos más adelante.

RAMA ASCENDENTE ANCHA: SEGMENTO MEDULAR

En la rata, el flujo neto de resorción es muy limitado, incluso nulo, a nivel de la porción medular, aun si, mediante un artificio experimental, se aumenta la diferencia de potencial transepitelial, haciéndola pasar, por ejemplo, de +8mV, valor habitual para segmentos profundos in vitro, a un valor del orden de +20 mV (13), (14). En síntesis, no se ha visto nunca resorción neta alguna de magnesio, sea cual sea la diferencia de potencial. Curiosamente, por el contrario, se ha visto que en condiciones en que el flujo neto de resorción de Na Cl es nulo, se afecta el comportamiento de los iones divalentes (Ca⁺⁺ y Mg⁺⁺) (14).

En efecto, durante la inhibición total del

transporte activo de Na Cl por furosemida, a pesar de la caída de la diferencia de potencial a un valor cercano a cero, se constata una significativa secreción de calcio y magnesio a la luz de las ramas ascendentes anchas medulares, secreción que, paradójicamente, aumenta si se crea una diferencia de potencial desfavorable a los movimientos pasivos de estos iones, de alrededor de +18mV. Esta secreción puede, así mismo, ser fuertemente inducida, sin aplicación de furosemida, perfundiendo simplemente la luz con una solución que sólo contiene 50mM de Na Cl mientras que el baño se mantiene en 150mM, condición que genera una diferencia de potencial del orden de +24mV. Estos flujos de secreción no se modifican con la presencia de AVP en el baño. Además, si se sustituye Na⁺ por K⁺ (25mM de K⁺ reemplazan a 25 mM de la N⁺ en la luz tubular), en presencia de furosemida, la diferencia de potencial permanece muy cercana a cero. Se constata, no obstante, una secreción masiva de calcio y de magnesio a la luz. Si, por el contrario, se crea una diferencia de potencial negativo del lado de la luz, del orden, por ejemplo de -15mV, no se constata movimiento alguno en dichos iones divalentes en un sentido u otro. Sólo se puede concluir, por el momento, teniendo en cuenta la impermeabilidad a los iones divalentes de la vía paracelular de este segmento, que esta secreción tiene ciertamente un origen celular, pero ignoramos todo acerca del o de los mecanismos responsables de dichos movimientos.

TÚBULO CONTORNEADO DISTAL Y CANALES COLECTORES (5)

En la rata, el túbulo contorneado distal resorbe alrededor del 5% del magnesio filtrado, lo que representa aproximadamente la mitad del débito que sale del asa de Henle. La cantidad de magnesio resorbida está en correlación con la cantidad que llega al túbulo distal. Ello se observa cuando la cantidad que llega es modificada tanto por una variación de la concentración de magnesio intratubular como por una modificación del débito de agua. Dicha correlación no es modificada ni por la elevación de la concentración intratubular del calcio ni por las variaciones en la resorción de sodio. Una amplia fracción de la resorción de magnesio tiene lugar, con mucha probabilidad, en la primera porción del túbulo: no se sabe a ciencia cierta si la segunda porción, vale decir, el túbulo colector, es también sede de dicho transporte.

Disponemos de escasos datos acerca del transporte de magnesio a lo largo de los canales colectores. Aquellos que resultan de la comparación del débito fraccionario en la porción final del túbulo contorneado distal con el débito fraccionario en la orina final o definitiva, parecen indicar un transporte neto nulo a lo largo de este trayecto terminal del nefrón. Esta comparación,

sin embargo, no puede ser sino una estimación muy aproximada en razón del desconocimiento de la parte correspondiente a los nefrones profundos en la elaboración de la composición de la orina. Empero, los estudios de microperfusión de los canales colectores corticales o por micro-punción en la porción de estos canales, asequibles a la superficie de la papila, no han permitido detectar una capacidad de transporte alguna de dichas estructuras en relación con el magnesio, corroborando de esta manera las conclusiones obtenidas de modo indirecto.

MECANISMOS DE TRANSPORTE

Túbulo proximal

En razón de su pequeña intensidad en el adulto, el transporte de magnesio por el túbulo proximal ha sido poco estudiado. Se trate de la porción contoneada o de la recta, la vía paracelular posee una permeabilidad relativamente baja frente al ión magnesio, si se la compara con la permeabilidad al sodio, que es muy elevada. Teniendo en cuenta la orientación favorable de la gradiente eléctrica a lo largo de prácticamente todo el túbulo proximal (alrededor de +3mV), es posible, pues, suponer que el magnesio pudiera desplazarse a lo largo de la vía paracelular por simple difusión pasiva.

En dicho caso, el débito de magnesio que utilizaría esa vía sería del orden de $1 \text{ p mol. min}^{-1}$, $\text{mm}^{-1} \cdot \text{mV}^{-1}$, lo que constituye un valor elevado, como lo veremos más adelante, en relación con el del débito del ión que utiliza la vía paracelular del segmento cortical de la rama ascendente ancha.

Un cálculo como éste se halla, sin embargo, sujeto a error en la medida en que, por un cálculo de flujo, no es ciertamente la longitud del segmento tubular la que debe ser tomada en cuenta, sino, específicamente, la geometría tubular.

RAMA ASCENDENTE ANCHA. SEGMENTO CORTICAL:

Transporte activo versus pasivo (5)

Tanto en la rata como en el conejo, el transporte de magnesio a través del segmento cortical de la rama ascendente ancha depende del sentido y del valor de la diferencia de potencial transepitelial. Si se perfunde un túbulo de rata, en condiciones simétricas (150 mM de Na^+ en el baño y la luz), el débito de resorción se sitúa próximo a $0,02 \text{ p mol. min}^{-1} \cdot \text{mm}^{-1} \cdot \text{mV}^{-1}$. Este valor permanece sensiblemente el mismo cualquiera sea el valor o el origen de la diferencia de potencial, que ésta sea fijada experimentalmente (bloqueando el transporte activo de NaCl e imponiendo el sentido y el valor de la gradiente eléctrica por medio de gradientes transepiteliales apropiadas de NaCl), o que la diferencia de potencial sea generada espontáneamente por el transporte activo de NaCl (5). Como lo indica la

figura 1, sólo cambia el signo cuando el sentido del potencial se invierte.

En presencia de furosemida y en ausencia de gradiente transepitelial de NaCl , la diferencia de potencial se derrumba y, paralelamente, el flujo de magnesio disminuye considerablemente, sin alcanzar, empero, un valor nulo en la rata (15). Como en el caso del segmento medular, evocado más arriba, se constata aquí también una ligera secreción de magnesio en la luz, en presencia de este inhibidor, aun cuando la diferencia de potencial sea nula. Ello hace suponer que pudieran también suscitarse fenómenos de secreción de manera análoga en el segmento cortical.

Además, la aplicación en la región basolateral de ácido difenilamino -2- carboxílico reduce la diferencia de potencial transepitelial, por inhibición de los canales de cloro basolaterales, y disminuye proporcionalmente, en la misma proporción, el flujo de resorción del magnesio. Cuando se perfunde la luz del túbulo con una solución que sólo contiene 50 mM de Na^+ , mientras que el baño está en 150 mM, el potencial de dilución así creado, establece una diferencia de potencial transepitelial muy elevada, de alrededor de +30mV, que genera un importante flujo neto de resorción de magnesio (16), (17), mientras que el flujo neto de sodio es nulo puesto que el flujo activo de resorción se equilibra con el flujo pasivo dirigido en sentido inverso.

El conjunto de estas observaciones establece el carácter pasivo del transporte de magnesio a través del epitelio del segmento cortical de la rama ascendente ancha, transporte que debe, muy verosímilmente, utilizar la vía paracelular. Dado el sentido y el valor de la diferencia de potencial transmembranal de la célula (del orden de -80mV en relación con el medio extracelular) y el nivel de la actividad del Mg^{++} intracelular (alrededor de 0,5 mM) (18), el paso a través de la membrana basolateral tendría lugar, en efecto, en contra de una fuerte gradiente electroquímica, que requiere un sistema de transporte activo que debiera permanecer operativo en el curso de las diversas situaciones experimentales descritas más arriba.

MAGNESIO INTRACELULAR

Quamme y su equipo, empleando células de origen renal en cultivo, determinaron la actividad intracelular del Mg^{++} con la ayuda de una sonda fluorescente, la mag - fura 2 (18). Reportaron valores cercanos a 0,5 mM, que son del orden de los generalmente determinados en otros tipos celulares, de origen epitelial o no. El magnesio libre sólo representa del 1 al 3% del magnesio total. La mayor parte de este elemento se halla ligado a compuestos tanto orgánicos como inorgánicos.

Cuando se cultivan células provenientes de ramas ascendentes anchas, aisladas de la corteza renal porcina mediante una técnica de doble anticuerpo, durante 16 a 24 horas en un medio

sin magnesio ($<0,1$ mM), la actividad intracelular de este ión se establece alrededor de $0,2$ mM (19). Poniéndolas nuevamente (a las células) en presencia de un medio rico en magnesio (5 mM), se constata un aumento de la actividad del magnesio intracelular hasta un valor de equilibrio de $0,6$ mM. Los movimientos del magnesio que dan cuenta de dicho aumento son relativamente específicos puesto que la carencia en Mg no afecta a los movimientos de calcio y son, asimismo, independientes del contenido del medio externo en cationes divalentes (Sr^{++} , Cd^{++} , Co^{++} , Ba^{++} y Ca^{++}). La misma técnica ha sido puesta en práctica sobre cultivos de células renales de perro (MDCK) y de opossum (OK) (18), (20). Dai y col han mostrado que la actividad intracelular de Mg podía hallarse aumentada por el factor atrial natriurético y el 8-bromoguanosín 3' 5'-monofosfato cíclico (8BNPc), disminuida por la PTH, la calcitonina y el 8-bromoadenosín 3' 5'-monofosfato (21) y no influenciada por el pH intracelular o el contenido en ATP (21), (22). Es probable que estos movimientos de Mg no tengan que ver con el transportador transepitelial y estarían destinados a asegurar los requerimientos metabólicos de la célula en relación con este elemento.

TÚBULO CONTORNEADO DISTAL

La diferencia de potencial transepitelial del túbulo distal es, generalmente, del orden de -5 mV a -10 mV y la resistencia transepitelial es elevada. La actividad del Mg intracelular es cercana a $0,5$ mM mientras que la concentración de este catión en el fluido tubular se halla comprendida entre $0,2$ y 1 mM, de acuerdo con las situaciones fisiológicas. Estas características implican, por tanto, la intervención de un transporte activo y excluye, a priori, la participación de la vía paracelular. La perfusión in vivo de túbulos distales, además, con soluciones sin magnesio muestra que el flujo es unidireccional, dirigido de la luz hacia la sangre, sin retorno en sentido inverso (23). Las exploraciones in vivo o in vitro en túbulos aislados han proporcionado muy pocos datos acerca del o de los mecanismos de transporte que prevalecen, en razón de la heterogeneidad del túbulo, que comprende diversos tipos celulares muy diferentes entre sí, que se hallan más o menos dispersos a lo largo de toda la estructura (24).

Los trabajos, actualmente en curso, sobre cultivos de células, provenientes de túbulos contorneados distales, han de permitir, sin duda, hacer progresar nuestros conocimientos en este campo. Quamme y su grupo han mostrado que la entrada al interior de la célula, por la posible vía de canales específicos, se halla fuertemente influenciada por la gradiente eléctrica transmembrana apical (25). La salida por la membrana basolateral, necesariamente activa, implica la participación de un mecanismo aún desconocido.

MODULACIONES DEL TRANSPORTE DE MAGNESIO A LO LARGO DEL NEFRÓN

Túbulo contorneado proximal.

La resorción proximal de Mg es tan modesta, en comparación con la de los demás constituyentes del ultrafiltrado glomerular, que no se justifica el determinar experimentalmente la influencia de las situaciones que modifican el transporte de agua y de solutos en esta porción del nefrón. En el estado actual de los conocimientos, está uno tentado de decir que dicho transporte no parece estar afectado por ninguna de las situaciones fisiológicas o fisiopatológicas (5) como la expansión del volumen extracelular, la hipermagnesemia o la hipercalcemia o aun la administración de hormonas como la PTH, la calcitonina o el glucagón que inubien la resorción proximal de agua, mientras que la arginina—vasopresina, aun cuando no afecta al débito de agua, no posee tampoco efecto alguno.

ASA DE HENLE Y RAMA ASCENDENTE ANCHA

Los efectos de un cierto número de hormonas o agonistas (PTH, calcitonina, glucagón, arginina—vasopresina, isoproterenol, insulina) sobre el transporte de los iones mono y divalentes han sido estudiados in vivo en el asa de Henle de la rata (fig. 2) e in vitro sobre los segmentos corticales o medulares de la rama ascendente ancha de ratón (fig. 2) o de conejo (27). Brevemente, todos estos agentes estimulan estos transportes en el asa de la rata, ejerciendo sin embargo, efectos diferentes en ambos segmentos. En los roedores (rata, ratón) es posible concluir que estos agentes estimulan el transporte de magnesio y de calcio sólo a nivel del segmento cortical y estimulan, así mismo, el transporte de Na Cl en ambos segmentos (salvo la PTH, en ambas especies, y la calcitonina, en el ratón, que sólo actúa sobre el segmento cortical). La cinética de las respuestas a las hormonas es sensiblemente la misma, sea cual sea la naturaleza de la hormona y la especie iónica que se considere. No sucede lo mismo para el retorno a las condiciones iniciales; la reversibilidad es, en efecto, relativamente rápida en el caso de los iones monovalentes mientras que es mucho más lenta para los divalentes.

En el conejo, a nivel del segmento cortical, la PTH y la calcitonina estimulan el transporte de los iones divalentes, no así el de los monovalentes. A nivel del segmento medular, sus efectos no han sido estudiados.

En las tres especies citadas, las respuestas hormonales se corresponden con la distribución de las actividades adeni-liclásticas a lo largo de estos dos segmentos (28).

Los efectos en el asa se traducen, in vivo, por una reducción de la excreción urinaria de magnesio como también sucede en las situaciones de hipocalcemia o de hipomagnesemia. Por fin, un número importante de situaciones, tales como la expansión del volumen extracelular, la hipermagnesemia, la hipercalcemia, la acidosis metabólica, la administración de diuréticos tienen fuertes repercusiones sobre las funciones del asa de Henle donde inhiben la resorción de Mg, desencadenando, así, una fuga urinaria de este ión (5).

MECANISMOS DEL EFECTO DE LAS HORMONAS EN EL SEGMENTO CORTICAL DE LA RAMA ASCENDENTE ANCHA

En el conejo y la rata pequeña, la adición de PTH al baño aumenta el flujo neto de resorción de Ca y Mg. Lo mismo sucede con el flujo neto de Na Cl y con la diferencia de potencial transepitelial en el ratón, mas no en el conejo. Los efectos de diversos otros agonistas u hormonas como calcitonina, glucagon, arginina-vasopresina, isoproterenol e insulina, estudiados en el ratón, indican un incremento del flujo de Na Cl por las hormonas después de un período de alrededor de una hora (29), lapso después del cual, los flujos iónicos alcanzan sus máximos valores y se vuelven refractarios a toda estimulación. En el curso de este mismo período, las hormonas logran, no obstante, estimular los flujos de calcio y de magnesio (30). Además, siempre en esta especie, cuando el túbulo alcanza un estado estacionario, después del período refractario, el aumento del flujo de los iones divalentes, bajo el efecto de las hormonas, no es proporcional al incremento de la diferencia de potencial. Sin hormona, el flujo basal de Mg es del orden de $0,02 \text{ p mol. min}^{-1} \cdot \text{mm}^{-1} \cdot \text{mV}^{-1}$, mientras que el componente del transporte hormono-dependiente es del orden de $0,12 \text{ p mol. min}^{-1} \cdot \text{mm}^{-1} \cdot \text{mV}^{-1}$, lo que indica o la participación de un componente activo expresado por la hormona o un aumento de la permeabilidad de la vía paracelular con respecto a dichos iones.

De hecho, el conjunto de observaciones recolectadas hasta ahora militan en favor de la segunda hipótesis. En efecto, cuando se anula la diferencia de potencial, con la administración de furosemida por ejemplo, las hormonas son incapaces de generar el menor transporte de iones divalentes (15). Por el contrario, cuando se fija experimentalmente la diferencia de potencial en un cierto valor, imponiendo, por ejemplo, un gradiente transepitelial de Na Cl (50 mM en la luz y 150 mM en el baño), las hormonas son capaces de incrementar el flujo de resorción de los iones divalentes, en ausencia de toda variación de potencial así como en presencia o ausencia de un transporte activo de Na Cl (16), (17). La

presencia de PTH en el baño provoca un elevado transporte de Mg. Si se le retira del baño, se produce una caída de dicho transporte iónico, a pesar del mantenimiento del valor de la diferencia de potencial. Por lo tanto, parece evidente que, en el segmento cortical de la rama ascendente ancha en la rata pequeña, el aumento de flujo de Ca y Mg, por acción de las hormonas, resulta de los efectos sinérgicos de dos factores: un aumento de la permeabilidad de la vía paracelular y un incremento de la diferencia de potencial transepitelial (17). En el conejo, parece que sólo la permeabilidad de la vía paracelular se vería modificada (fig. 4).

RECEPTORES SENSIBLES AL CALCIO

Se evoca, desde hace ya algún tiempo, la existencia de receptores sensibles a los solutos: receptores sensibles a la glucosa o a la presión osmótica que generan informaciones transmitidas, en los organismos superiores, al SNC bajo la forma de potenciales de acción.

En la levadura *Saccharomyces cerevisiae* dos receptores sensibles al Na Cl extracelular activan una sucesión de quinasas en respuesta a variaciones de la tonicidad del medio ambiente, llevando a la fosforilación y a la activación simultánea de HQG1 (31), (32), (33), una quinasa homóloga a la MAPK (mitogen-activated protein kinase) de los eucariotas superiores. En las células epiteliales de la medular renal, han sido ya identificadas tres quinasas activadas por la hiperosmolaridad (34). Se cuenta con una ERK (extracellular signal-regulated kinase), una JNK/SAPK (es decir, una cJun N-terminal Kinase) a la que también se denomina stress-activated protein kinase y una HOG1 Kinase, que desempeña un rol crucial en la respuesta celular al estímulo osmótico y en la regulación de la expresión de los genes de los osmolitos.

Los trabajos de Cohen y col (34) han logrado establecer, sobre una línea de células de canales colectores de la médula interna, que la úrea hipertónica (200 mM) aumenta la transcripción de diversos genes de expresión precoz (IEG: immediate early gene), especialmente de Egr-1, que es un factor de transcripción. Además, la úrea hipertónica aumenta la producción de inositol 1, 4, 5- trifosfato (IP3) por dichas células e induce la fosforilación del residuo de tirosina de la isoforma de la fosfolipasa C específica de la tirosina quinasa (PLC-TK).

Riccardi y col han aislado, a partir del riñón de rata, un receptor sensible al Ca^{++} (RaKCar), sigla de "rat kidney extracellular calcium receptor" (35), que presenta un grado de homología elevado, cerca de 90% al nivel de aminoácidos, con BoPCar1 o bovine parathyroid extracellular calcium receptor. Esta nueva familia de receptores pertenece a la superfamilia de receptores acoplados a las proteínas G. Posee también la capacidad de activar la vía de la fosfolipasa C.

El receptor calcio-sensible se expresa tanto en los segmentos corticales como en los medulares, lo que pudiera parecer paradójico pues, en la rata, estos últimos no transportan ni Ca^{++} ni Mg^{++} .

En realidad, es altamente probable que este receptor desempeñe un papel regulador en relación con diversas funciones celulares, incluyendo los transportes iónicos. Se concibe que la naturaleza de las especies iónicas que son objeto de esta regulación puede ser diferente de la del ión que activa el receptor y dependa más bien de la cascada bioquímica de eventos intracelulares que él (el receptor) desencadena.

Es interesante señalar que el receptor es también sensible al Mg^{++} extracelular, en menor grado, sin embargo, que lo es al Ca^{++} , lo que sugiere que el ión Mg pudiera, asimismo, activar a este "sensor". El Mg , al igual que el Ca , podría pues (indiferentemente) desempeñar un rol de primer mensajero ante este tipo de receptor, hipótesis que algunos autores hacen ya suya (8).

EFFECTOS DE LA HIPOMAGNESEMIA

La hipomagnesemia, de origen alimenticio, aumenta la resorción de Mg (y de calcio) en el asa de Henle y, de este modo, reduce la excreción de dicho ión (36), (37). Estos fenómenos intervienen muy rápidamente, en menos de 24 horas, mientras que la concentración de Mg en plasma no tiene aún tiempo de modificarse, de modo detectable, por la dieta (18). El vínculo entre el contenido de la dieta y la resorción en el asa, no ha sido establecido. Sea como fuera, el hecho de que esta dieta aumente la capacidad de transporte del asa de Henle para Mg y Ca , se halla objetivada por los resultados obtenidos por Di Stefano y Witner (38), en segmentos corticales de ramas ascendentes anchas, obtenidas de ratas pequeñas machos de 8 semanas, sometidas a una dieta carente de magnesio durante 36 horas. En relación con ratas de la misma edad, sometidas a una dieta habitual, el transporte de Mg se incrementó en un 143% y el de calcio en un 73%. Estos aumentos de flujo no se acompañaron de variación alguna de diferencia de potencial transepitelial ni del flujo neto de Na Cl y es signo de un aumento de la permeabilidad de la vía paracelular a estos cationes. Es muy importante la edad del animal. Si los efectos de una dieta desprovista de Mg son estudiados en ratas pequeñas que tienen sólo cuatro semanas, aquéllos no se manifiestan: el transporte de los iones divalentes aún no se modifica. Se ha establecido así que el flujo neto de resorción de Mg y de Ca aumenta muy significativamente entre la cuarta y la octava semana, y también en este caso, dicho aumento tiene lugar sin variación paralela de la diferencia de potencial transepitelial ni del flujo neto Na Cl . El fenómeno de maduración es, pues, muy selectivo puesto que, durante este período, sólo afecta al transporte paracelular de estos dos iones, sin comprometer el transporte transcelular (y sin duda, paracelular) de Na

Cl . La existencia de una maduración selectiva de las funciones de transporte del asa está de acuerdo con los datos obtenidos, en la rata, por estudios de micropunción (39). En esta especie, entre la segunda y la cuarta semana, se constata un aumento de la resorción fraccionaria de Mg en el asa sin variación de la resorción fraccionaria del sodio. Además, este aumento compensa la disminución de resorción proximal del ión divalente, de suerte que la excreción fraccionaria de Mg permanece constante. Desde un punto de vista fisiológico, una compensación, por el asa, de la disminución de transporte proximal, sería capaz de proteger al organismo de los efectos deletéreos de una fuga de magnesio especialmente durante la infancia, en que una insuficiencia de este tipo puede acompañarse de trastornos de las funciones del SNC.

REGULACIÓN DE LA PERMEABILIDAD DE LA VÍA PARACELULAR

Si resumiéramos las observaciones recogidas sobre la permeabilidad de la vía paracelular del segmento cortical de rata pequeña, se constata que, en ausencia de toda intervención, la dirección y la intensidad del flujo neto de Mg , son fijadas por la diferencia de potencial transepitelial. En los roedores, esta permeabilidad puede ser aumentada en forma importante mediante una estimulación hormonal, y esta amplificación puede tener lugar sin o con variación simultánea del flujo neto de Na Cl y de la diferencia de potencial transepitelial, siendo los efectos sinérgicos en este último caso. En el conejo, ella (la amplificación) interviene sin variación simultánea de estos parámetros. Puede, asimismo, ser observada en ausencia de todo flujo neto de Na Cl , anulando éste mediante inhibidores específicos o por la instalación de una gradiente de concentración transepitelial, que induce un flujo paracelular (pasivo) de igual intensidad, pero de signo opuesto al flujo transcelular (activo). Cuando los flujos de resorción de los iones mono y divalentes son estimulados por una hormona, la cinética de retorno a las condiciones iniciales es más lenta para los iones divalentes.

La permeabilidad de la vía paracelular a los iones divalentes sigue un proceso de maduración. Entre la cuarta y la octava semana, el transporte de dichos iones aumenta, sin una variación del flujo neto de Na Cl ni de la diferencia de potencial. Cuando los túbulos son obtenidos de ratas pequeñas de 8 semanas, después de una dieta pobre en magnesio a lo largo de las 36 últimas horas, es posible constatar que los flujos de Mg y Ca están muy importantemente aumentados mientras que el flujo neto de Na Cl y la diferencia de potencial no experimentan modificación. Este fenómeno aún no se produce si las ratas pequeñas sólo tienen 4 semanas de vida.

El conjunto de todas estas observaciones sugiere, pues, fuertemente, la puesta en marcha,

en la vía paracelular, de un sistema de transporte específico del calcio y del magnesio, que sigue un proceso de maduración y que es sensible al AMPc y a las modificaciones del balance de Mg (o de calcio).

EFFECTOS DE LA HIPERMAGNESEMIA Y DE LA HIPERCALCEMIA

Se constata que una sobrecarga del organismo en Mg o en Ca, que lleva a una hipermagnesemia o a una hipercalcemia y, por tanto, a un aumento de la cantidad filtrada de estos iones, se traduce por una inhibición simultánea de la resorción fraccionaria de Mg y de Ca, aun cuando en valor absoluto, la cantidad resorbida de uno o del otro catión aumente en cada caso (40), (41), (42). Sin embargo, cuando se perfunden segmentos corticales de ramas ascendentes de conejo *in vitro*, el aumento de la concentración de Mg en el baño sólo se acompaña de una inhibición de la resorción de este mismo ión, mientras que el transporte de Ca no se modifica (43). Es posible observar un fenómeno similar con el calcio: inhibición del transporte de Ca sin modificación del transporte de Mg (43). Las experiencias de Quamme y Dirks (44) subrayan la diferencia entre las respuestas de la rama ascendente ancha según el condicionamiento, *in vivo* o *in vitro*, empleado. En efecto, si las asas de Henle son perfundidas *in vivo*, en la rata, los autores observan que la cantidad de Mg resorbida aumenta con la cantidad de ión que llega y ello vale igualmente para el Ca (40). Estas conclusiones han sido validadas por Sharaghi y Agus (42), (43). Sin embargo, según que esta relación se investigue en el animal normal o en el que presenta una hipermagnesemia, es posible observar que a cada débito de magnesio que llega a la rama ascendente, corresponde una cantidad resorbida tanto de Mg como de Ca muy inferior en el animal con hipermagnesemia en relación con el animal normal mientras que el transporte de Na⁺ y de Cl⁻ no se modifica (44). De la misma manera, la hipercalcemia inhibe, a la vez, el transporte de Mg y de Ca, sin afectar al transporte de Na⁺ y de Cl⁻ (40). Se pensó que la hipercalcemia (o la hipermagnesemia), al disminuir la secreción de PTH, reduciría también el transporte de los iones divalentes.

Esta interpretación no puede sostenerse ya hoy por dos razones principales: por una parte, en los roedores, la PTH estimula tanto el transporte de los iones monovalentes como el de los divalentes, en la porción cortical de la rama ascendente ancha (45). Sin embargo, se observa aquí una disociación de los efectos sobre ambas clases de iones. Además, debido a la existencia de un múltiple control hormonal de dichos transportes en esta porción del nefrón (46), se sabe que la supresión, en la sangre circulante, de una sola de las hormonas que estimulan al sistema adenilciclástico de las células de la rama ascendente

ancha, resulta insuficiente para modificar los transportes iónicos (27).

¿Cómo volver compatibles entre sí todas estas observaciones? Se podría imaginar que los transportes de Ca y Mg están asegurados por dos "sistemas de transporte" paracelulares, distintos para cada uno de los dos iones. Ello permitiría dar cuenta de las observaciones de Sharaghi y Agus (43). La actividad de estos dos sistemas estaría bajo un control común, regido por las hormonas que activan —directa o indirectamente— la vía del AMPc, que inducirían así una respuesta rápida. Ello explicaría las observaciones realizadas con las hormonas, administradas *in vivo* e *in vitro* (27). Pero, es perfectamente posible que la actividad de dichos sistemas se halle, asimismo, bajo la influencia de receptores sensibles al Ca o al Mg extracelulares que, a través de la vía de la fosfolipasa C, inducirían una respuesta más lenta, por inhibición o activación de la transcripción de genes de expresión precoz cuyos productos estarían en relación con estos sistemas. Gracias a este mecanismo, se daría cuenta del hecho que la hipercalcemia o la hipermagnesemia, producidas *in vivo*, inhiben el transporte simultáneo de los dos cationes divalentes (39), (43), y que la hipomagnesemia, inducida *in vivo*, exalte, a la vez, la resorción tanto de Ca como de Mg, sin alterar el transporte de los iones monovalentes (36), (37), (38). Para estudiar la influencia del calcio extracelular sobre el transporte de los iones divalentes *in vitro*, habría que emprender la investigación sobre túbulos renales de animales a los que se haya inducido experimentalmente hipercalcemia o hipermagnesemia en las horas previas al estudio.

TÚBULO CONTORNEADO DISTAL

El conjunto de observaciones realizadas *in vivo* e *in vitro* indican que la PTH, la calcitonina y el glucagon estimulan el transporte de Mg en esta porción del nefrón (5). No se trata ciertamente de las únicas hormonas que deban actuar sobre este transporte, puesto que un gran número de agentes tienen como blanco a este mismo segmento, como las prostaglandinas, ciertos factores de crecimiento, algún agonista adrenérgico y colinérgico, la bradiquinina, ciertos mineralocorticoides.

La hipermagnesemia o la hipercalcemia inducen un aumento de la cantidad de Mg que llega al túbulo, que se traduce por una disminución de la resorción fraccionaria del ión (44). Es posible que situaciones tales como las modificaciones del equilibrio ácido básico, la carencia de Mg, de fosfato o de potasio sean capaces de modificar el transporte del Mg en este segmento. Estas hipótesis habrán de ser confirmadas en los próximos años.

De acuerdo a los trabajos de Gesek y Friedman y de Dai, Friedmann y Quamme (47), (48), parece ser que la PTH, la calcitonina y el glucagon son capaces de estimular la entrada de Mg al interior de la célula (48). Según Quamme,

los mecanismos implicados serían de la misma naturaleza que los que se ponen en acción para el transporte de calcio (47).

Al igual que en el caso del calcio (49), la hiperpolarización de la membrana apical incrementa el ingreso del Mg. Las hormonas son capaces de provocar dicha hiperpolarización (50). El NPPB, un inhibidor de los canales de cloro, aplicado en el región basolateral, bloquea la estimulación hormonal para esta entrada de Mg, como lo hace también la supresión de cloro externo.

De acuerdo con Gesek y Friedman (47), que se han interesado en los movimientos del calcio, el AMPc activaría a los canales de cloro basolaterales, disminuyendo así la actividad intracelular de cloro, favoreciéndose su ingreso apical. El aumento del flujo ingresante de cloro hiperpolarizaría la membrana apical, lo cual favorecería la entrada del catión (Ca^{++}) a la célula.

Al igual que ocurre en el segmento ascendente ancho, una dieta pobre en Mg. se acompaña, en el día mismo, de un aumento de la resorción distal de magnesio, sin variaciones del transporte de Na ni del Ca (36), (37). La velocidad de entrada del Mg en las NDCK o células hechas inmortales del túbulo contorneado distal de rata, está aumentada cuando se cultivan en un medio sin Mg. La respuesta es relativamente rápida, bastando una a dos horas de exposición.

Sin embargo, dicha respuesta se desarrolla en el tiempo, alcanzándose el efecto máximo entre 4 a 5 horas después de la exposición (19). Se halla enlentecida por los inhibidores de la síntesis proteica. Las células serían, pues, capaces de adaptarse ellas mismas a la disponibilidad del organismo en magnesio mediante un mecanismo que aún queda por dilucidar (25).

Además de las hormonas, otros agentes son capaces de modular los movimientos de Mg a lo largo del túbulo distal. Amiloride tiende a disminuir la excreción de este catión. Este hecho, bien establecido en el hombre, ha sido hallado también en la rata (51). Sin embargo, los efectos de la clorotiazida son menos netos in vivo (25). Se reporta con cierta frecuencia, aún cuando no en forma sistemática, una elevación de la tasa de excreción de Mg bajo la influencia de dicho diurético.

En efecto, la clorotiazida induce una inhibición muy marcada de la resorción renal de Na que sobrepasa ampliamente, en valores relativos, la disminución, cuando se observa, de la resorción del Mg.

Los movimientos de Mg y de Na, sitio de acción de clorotiazida pueden, por tanto, ser disociados, en el túbulo distal, por acción de dicho diurético así como por las maniobras descritas más arriba.

SIGNIFICACIÓN FISIOLÓGICA DEL CONTROL HORMONAL MÚLTIPLE DEL TRANSPORTE DE MAGNESIO EN LA RAMA ASCENDENTE ANCHA

El esquema de la figura 7 ilustra los principales sistemas de transporte del epitelio del segmento cortical, así como las vías de regulación, entre las cuales, algunas no han sido formalmente identificadas, que participan en el control de estos sistemas. La significación fisiológica de estas múltiples vías de regulación está aún lejos de ser clara. En efecto, la similitud de las respuestas celulares observadas con la mayor parte de las hormonas que actúan sobre este segmento, plantea la cuestión de su redundancia (11), (12).

Apoyándose en el hecho de que los receptores de calcitonina y de PTH parecen refractarios a toda maniobra de desensibilización, mientras que los receptores de glucagon, de catecolamina y sobre todo de AVP, son mucho más sensibles (52), podría plantearse la existencia de dos clases funcionalmente distintas de receptores (5). Como la PTH y la calcitonina son, evidentemente, las hormonas más importantes de homeostasis del calcio, pudiera ser pertinente que dichas hormonas puedan mantener el nivel de transporte de los cationes divalentes en circunstancias en que el transporte de Na Cl debe ser deprimido. Otra hipótesis posible: es conocido el hecho de que la gradiente longitudinal de concentración puede ser muy fácilmente anulada. La supresión de PTH, de AVP, de calcitonina y de glucagon en la sangre circulante derrumba totalmente, en menos de dos horas, esta gradiente, al punto que la presión osmótica del tejido de la papila alcanza un nivel cercano al de la sangre. Sin embargo, la reconstitución de dicha gradiente necesita un período de tiempo mucho más largo, que puede ser de varios días según las especies (53). Pudiera ser importante que la gradiente se mantuviera en cualquier circunstancia, cualquiera que sea el nivel de tal o cual hormona circulante.

En el momento actual, parece, sin embargo, que la significación fisiológica de estos controles hormonales (y también no hormonales, a través de los sensores) es bastante diferente a lo que se pensaba (11), (12).

Se constata, en efecto, que la mayoría de las hormonas cuyos efectos han sido estudiados hasta ahora, en la rama ascendente ancha, ejercen individualmente, a nivel del riñón, dos efectos mayores simultáneos: una disminución de la excreción de Mg y un aumento del poder de concentración del riñón. Es posible, entonces, preguntarse de qué manera el riñón logra regular el balance de Mg en forma independiente del de agua. La pregunta es pertinente puesto que se sabe que la rama ascendente ancha es capaz de adoptar configuraciones especiales en que el transporte de los iones divalentes puede ser modulado de modo independiente del de los

iones monovalentes, como hemos anotado más arriba. En un mismo epitelio, los transportes pueden ser, pues, objeto de regulaciones diferenciales, en función de los requerimientos del organismo.

Las múltiples interacciones entre las diferentes vías de transducción, activadas por primeros mensajeros, en cada una de sus etapas, sugieren fuertemente una regulación de las funciones celulares de naturaleza combinatoria (11), (12). Podría ser, efectivamente, la combinación de los efectos integrados de estas vías de transducción sobre los diversos efectores celulares, que instalaría al epitelio tubular en la configuración requerida para cumplir la(s) función(es) que imponen las exigencias de la homeostasis. Sería la distribución de las hormonas en sangre y la concentración de ciertos elementos del medio interno, las que, activando a los receptores, cada cual en grado diverso, modificarían los sistemas de transporte de la célula para cumplir un trabajo preciso en un momento determinado.

Un modo tal de regulación de tipo combinatorio ha sido ya postulado para la expresión de los genes (54). La transcripción de un gen se halla sometida al control de numerosos factores, activadores, o represores, que actúan finalmente sobre una de las tres ARN polimerasas. La activación de los factores de transcripción en el núcleo puede llevarse a cabo por intermedio de la superfamilia de las MAP-quinasas, un buen número de las cuales son reguladas—en los mamíferos—por señales extracelulares (55), (56).

De acuerdo con Hill (57), el conjunto de las vías de transducción intracelulares, que interactúan unas con otras, ilustran el carácter combinatorio de las interacciones que pueden intervenir a nivel del receptor mismo. Dichas interacciones pueden determinar la naturaleza del complejo transcripcional y, en consecuencia, la naturaleza de la secuencia de ADN que debe ser activado. Las interacciones combinatorias son capaces, pues, de incrementar la especificidad de la respuesta. Pueden, asimismo, inducir la expresión de diversos genes bajo el efecto de un estímulo único, con cinéticas de respuestas diferentes. Las interacciones combinatorias pueden, por fin, cambiar la respuesta cualitativa de un promotor ante los factores de transcripción, pudiendo inducir su combinación—una activación o una represión de la transcripción.

Si esta concepción de la regulación pluri-hormonal de la composición del medio interno demuestra ser la correcta, será esencial orientarse hacia la investigación de los mecanismos que le permiten a una célula el poder cumplir sus funciones reguladoras independientemente las unas de las otras.

Ello podría ser explorado, por ejemplo, condicionando previamente a los animales con dietas alimenticias apropiadas o con la aplicación de “cócteles” hormonales sobre ramas ascendentes anchas microperfundidas *in vitro*, composiciones tisulares que debieran revelar las combinaciones

que favorecen tal o cual tipo de transporte o su disociación, entre aquellos que utilizan la vía transcelular y los que transitan por la vía paracelular. Sin embargo, como el nefrón está compuesto por una sucesión de segmentos tubulares capaces de transportar la mayor parte de los elementos filtrados, será necesario, más allá del nivel celular, alcanzar un nivel de integración “segmentario” si se quiere comprender realmente la función reguladora del riñón. Esta investigación a ese nivel resulta ser mucho más ardua que las investigaciones del tipo anterior.

Una posible vía parece haberse abierto con el conocimiento próximo, o ya disponible, del genoma de ciertas especies animales o vegetales y, en un futuro ya muy cercano, de la totalidad del genoma humano. Disponemos, en efecto, de diversos métodos de exploración que permiten determinar la naturaleza y el grado de expresión de los ARNm de los genes activados por una situación fisiológica determinada (58), (59). Además de estas informaciones genéticas, parece ser que, en un futuro bastante próximo, podremos disponer, asimismo, de bancos de proteínas (60), (61).

Al evaluar, en forma simultánea, los eventos traduccionales y post-traduccionales, en respuesta a una situación dada, podremos conocer a los actores de la respuesta, su rol y su grado de implicación. Es quizás así, como podremos abordar aquello que representa uno de los grandes desafíos de la biología: otorgar una significación de conjunto a la organización de los sistemas complejos que constituyen a los seres vivos (62), sistemas que, entre otras muchas acciones, regulan también los niveles de la presión arterial en el hombre y en los mamíferos superiores (63).

BIBLIOGRAFÍA

1. Quamme GA, Dirks J. Magnesium: Cellular and renal exchanges In: DW Seldin, G. Giebish eds. *Physiology and Pathophysiology*, New York, Raven Press 1985, 1269—1280.
2. Quamme GA, Dirks J. The physiology of renal magnesium handling. *Renal Physiol*, 1986, 9, 257—269.
3. Rouffignac C De. Regulation of magnesium excretion. In: FI Col, Mj Favus eds. *Disorders of bone and mineral metabolism*. New York, Raven Press Ltd., 1992, 41—55.
4. Quamme GA, Rouffignac C De. Transport of magnesium in renal epithelial cells. In: Nj Birch ed. *Magnesium and the cell*, London, Academic Press, 1993, 235—262.
5. Rouffignac C De., Quamme G. Renal magnesium handling and its hormonal control. *Physiol Rev*, 1994, 74 305—322.
6. Brown EM, Gamba G, Riccardi D et al. Cloning and characterization of an extracellular Ca^{++} -sensing receptor from bovine parathyroid. *Nature*, 1993, 366, 575—580.
7. Champigneulle A, Siga E, Vassent G et al, Relationship between extra- and intracellular cal-

- cium in distal segments of the renal tubule Role of the Ca^{++} -receptor Ra $KcaR$ *J Membr Biol*; 1997, 156, 321,332.
8. Brown EM, Hebert SC. A cloned Ca^{++} -sensing receptor: a mediator of direct effects of extracellular Ca^{++} on renal function? *J Am Soc. Nephrol*, 1996 6 1530-1540.
 9. Terada Y, Tomita K, Homma M et al. Sequential activation of Raf-1 Kinase, mitogen activated protein (MAP) Kinase, MAP Kinase and $S6$ Kinase by hyperosmolality, in renal cells. *J Biol Chem*, 1994, 269, 31296 — 31301.
 10. Cohen DM, Gullans SR, Chin WW. Urea signaling in cultured — murine inner medullary collecting duct (m/MCD3) cells involves protein Kinase C, inositol 1, 4,5 -triphosphate (IP3) and a putative receptor tyrosine-kinase. *J Clin Invest*, 1996,97, 1884 - 1889.
 11. Rouffignac C de. La regulation pluri-hormonale des fonctions rénales s'effectuerait — elle selon un mode combinatoire? *Medicine / Sciences*, 1993, 9, 1367 -1377.
 12. Rouffignac C De. Multihormonal regulation of nephron epithelia: achieved through combinational mode? *Am J Physiol*, 1995, 38, R739 - R-748.
 13. Mandon B, Siga E, Roinel N et al Ca^{++} , Mg^{++} , and K^{+} transport in the cortical and medullary thick ascending limb of the rat nephron. Influence of transepithelial voltage. *Pflügers Arch*, 1993, 424, 558 - 568.
 14. Wittner M, Desfleurs E, Pajaud S et al. Calcium and magnesium: low passive permeability and tubular secretion in the mouse medullary thick ascending limb of Henle's loop (MTAL) *J Membr. Biol*, 1996, 153, 27 -35.
 15. Di Stefano A, Roinel N, Rouffignac C de et al. Transepithelial Ca^{++} and Mg^{++} transport in the cortical thick ascending limb of Henle's loop of the mouse is a voltage — dependent process. *Ren Physiol Biochem*, 1993, 16 157 — 166.
 16. Mandon B, Siga E, Roinel N et al. Insulin stimulates Na , Cl , Ca^{++} and Mg^{++} transport in the thick ascending limb of the mouse nephron. Cross potentiation with ADH. *Am J Physiol*, 1993, 265 F361 — F369.
 17. Wittner M, Mandon B, Roinel N et al. Hormonal stimulation of Ca^{++} and Mg^{++} transport in the cortical thick ascending limb of Henle's loop of the mouse: evidence for a change in the paracellular pathway permeability. *Pflügers Arch*, 1993, 423 387 — 396.
 18. Dai LJ, Quamme GA. Presence of a novel influx pathway for Mg^{++} in the MDCK cells. *Am J Physiol*, 1990, 259, C521 — C525.
 19. Dai LJ, Quamme GA. Intracellular Mg^{++} and magnesium depletion in isolated renal thick ascending limb cells. *J Clin Invest*, 1991, 88, 1255 — 1264.
 20. Li HY, Dai LJ, Krieger C et al. Intracellular Mg^{++} concentrations following metabolic inhibition in opossum kidney cells. *Biochem Biophys Acta*, 1993, 1181 307 — 315.
 21. Dai LJ, Quamme GA. Cyclic nucleotides alter intracellular free Mg^{++} in renal epithelial cells. *Am J Physiol*, 1992, 2-2, F1100 — F1104.
 22. Quamme GA. Intracellular free Mg^{++} with pH changes in cultured epithelial cells. *Am J Physiol*, 1993, 264 G383 - G389.
 23. Quamme GA, Dirks JH. Effect of intraluminal and contraluminal magnesium on magnesium and calcium transfer in the rat nephron. *Am J Physiol*, 1980, 238 F187 — F198.
 24. Bankir L, Kriz W. The renal commission of the international union of physiological sciences. Standard nomenclature for structures of the kidney. *Am J Physiol*, 1988 254 F1— F8.
 25. Quamme GA. Control of magnesium transport in the distal convoluted tubule. *Am J Physiol*, 1997, 267, H108 - H117.
 26. Rouffignac C De, Roinel N, Elalouf JM. Comparative effects of peptide hormones on water and electrolyte transports along the proximal and distal tubules of the mammalian nephron. New insights in vertebrate kidney function. In: JA Brown, RJ Balment, JC Rankin eds. Society for experimental biology. Seminar series. Cambridge Press, 1993 52 281 — 310.
 27. Rouffignac C De, Di Stefano A, Wittner M et al. Consequences of differential effects of ADH and other peptides hormones on thick ascending limb of mammalian kidney. *Am J Physiol*, 1991 260 R1023 —R1035.
 28. Morel F, Imbert — Teboul M, Chabardes D. Distribution of hormone-dependent adenylate cyclase in the nephron and its physiological significance. *Ann Rev Physiol*, 1981 43 569 — 581.
 29. Wittner M, Di Stefano A, Mandon B et al. Stimulation of Na Cl reabsorption by antidiuretic hormone in the cortical thick ascending limb on Henle's loop of the mouse. *Pflügers Arch*, 1991 419 212 - 214.
 30. Wittner M, Di Stefano A. Effects of ADH, PTH and glucagon on the cortical and medullary thick ascending limb of Henle's loop of the mouse nephron. *Pflügers Arch*, 1990 415 701 — 712.
 31. Brewster JL, Valoir T De, Dwyer ND et al. An osmosensing signal transduction pathway in yeast. *Science*, 1993, 259, 1760 - 1763.
 32. Maeda T, Wurgler - Murphy S, Saito H. A two component system that regulates an osmo-sensing MAP kinase cascade in yeast. *Nature*, 1994, 369, 242- 245.
 33. Maeda T, Taekawa M, Saito H. Activation of yeast PBS2, MAPKK by MAPKKKs or by binding of an SH3 - containing osmo-sensor. *Science*, 1995, 269, 554 -558.
 34. Cohen DM, Chin WW, Gullans SR. Hyperosmotic urea increases transcription and synthesis of Egr-1 In murine inner medullary collecting duct (mIMCD3) cells, *J Biol Chem*, 1994 269, 25865 - 25870.
 35. Riccardi D, Park J, Lee WS et al. *Saccharomyces cerevisiae*: cloning and functional expression of a rat kidney extracellular calcium/polyvalent cation-sensing receptor. *Proc Natl. Aca. Sci USA*, 1995, 92, 131 —135.
 36. Carney SL, Wang NLM, Quamme GA et al. Effect of magnesium deficiency on renal magnesium and calcium transport in the rat. *J Clin Invest*, 1980, 65, 180 - 188.
 37. Shafik IM, Quamme GA. Early adaptation of renal magnesium reabsorption in response to magne-

- sium restriction. *Am J Physiol*, 1998, 357, P974 - P977.
38. Di Stefano A, Desfleurs E, Maine G et al. Regulation of Ca^{++} and Mg^{++} reabsorption in the mouse cortical thick ascending limb of Henle's loop (CTAL) by low magnesium diet and metabolic alkalosis (abstract). The 2nd European Kidney Research Forum, 1995, 1 -15.
 39. Lelievre — Pegorier M, Mertet — Benichon C, Roinel N et al. Developmente pattern of water and electrolyte transport in rat superficial nephron. *Am J Physiol*, 1893, 245 F15 — F21.
 40. Quamme GA. Effect of hypercalcemia on renal tubular handling of calcium and magnesium. *Can J Physiol Pharmacol*, 1980, 6Q, 1275 — 1280.
 41. Le Grimelec C, Roinel N, Morel F. Simultaneous Mg, Ca, P, K, Na and Cl analysis in rat tubular fluid. .II During acute Mg plasma loading. *Pflügers Arch*, 1973, 340 197 - 210.
 42. Le Grimelec C, Roinel, Morel U-. Simultaneous Mg, Ca, P, K, Na and Cl analysis in rat tubular fluid. III During acute Ca plasma loading. *Pflügers Arch*, 1974, 346, 171 — 189.
 43. Shareghi GR., Agus ZS. Magnesium transport in the cortical thick ascending limb of Henle's loop of the rabbit. *J. Clin Invest*, 1982, 69, 759 - 769.
 44. Quamme GA, Dirks JH. Magnesium transport in the nephron. *Am J Physiol*, 1990 239 F393 - F401.
 45. Di Stefano A, Witner M, Nitschke R et al. Effects of PTH and CT on Na^+ , Cl^- , K^+ , Ca^{++} and Mg^{++} transport in cortical and medullary thick ascending limbs of mouse kidney. *Pflügers Arch*, 1990 417 161 — 167.
 46. Morel F, Chabardes D, Imbert — Treboul M et al. Multiple hormonal control of adenylate cyclase in distal segments of the rat kidney. *Kidney Int*, 1982 ,21, 555 - 562.
 47. Gesek FA, Friedman PA. On the mechanism of PTH stimulation of Ca uptake by mouse distal convoluted tubular cells. *J Clin Invest* 1992, 90 429 — 438.
 48. Dai LJ, Friedman PA, Quamme GA. Hormonal control of Mg^{++} transport in mouse distal convoluted tubular cells. *J Clin Invest* 1994 104, 261 -. 270.
 49. Constanzo LS. Comparison of calcium and sodium transport in early and late rat distal tubules: effect of amiloride. *Am J Physiol*, 1984, 249, F937 - F945.
 50. Dai LJ, Friedman PA, Quamme GA. Cellular mechanisms of glucagon stimulation of Mg transport in mouse distal convoluted tubule cells. *J Clin Invest*, 105, 89 - 94.
 51. Devane J, Ryan MP. Evidence for a Mg sparing action by amiloride diuretic renal clearance studies in rats. *Br J Pharmacol*, 1988 79 891- 896.
 52. Dublineau I, Pradelles P, Rouffignac C De et al. Differential short-term desensitisation to AVP, isoproterenol, glucagon, PTH and CT in the thick ascending limb of rat kidney. *Pflügers Arch.*, 1992, 42Q, 16 - 22.
 53. Bankir L, Rouffignac C De. Urinary concentrating ability: insights from comparative anatomy. *Am J Physiol*, 1985, 249, R643 — R666.
 54. Gierer A. Molecular models and combinatorial principles in cell differentiation and morphogenesis. In: Cold Spring Harbor Synposia on quantitative biology. Chromosome structure and function. Cold Spring Harbor Laboratory, 1974 38, 951 — 961.
 55. Itoh T, Yamauchi A, Miyai A et al. Mitogen-activated protein kinase and its activator are regulated by hypertonic stress in mandine-dar by canine kidney cells. *J Clin Invest*, 1994 93, 2387 — 2392.
 56. Bo Kemeyer D, Sorokin A, Dunn NJ. Multiple intracellular MAP kinase signaling cascades. *Kidney Int*, 1996, 49, 1187 — 1198.
 57. Hill CS, Treisman R. Transcriptional regulation by extracellular signals: mechanism and specificity. *Cell*, 1995, 80, 199 - 211.
 58. Velculescu VE, Zhang L, Vogelstein B et al. Special analysis of gene expression, *Science*, 1995, 2/0, 484 - 487.
 59. Schena M, Dari S, Davis RW et al. Quantitative monitoring of gene expression patterns with a complementary DNA microassay. *Science*, 1995, 270,467 - 470.
 60. Maillet I, Lagniel G, Perrot M et al. Rapid identification of yeast proteins on two dimensional gels. *J Biol Chem*, 1996, 271 10263 - 10270.
 61. Kahn P. From genome to proteome: looking at cell protein. *Science*, 1995 270 369 — 370.
 62. Pennisi E. From genes to genome biology. *Science*, 1996, 272, 1736 - 1738.
 63. Wagner P, Cardona M. El magnesio y la regulación de la presión arterial. *Arch Ven de Cardiol*, 1982 12, 24-31.

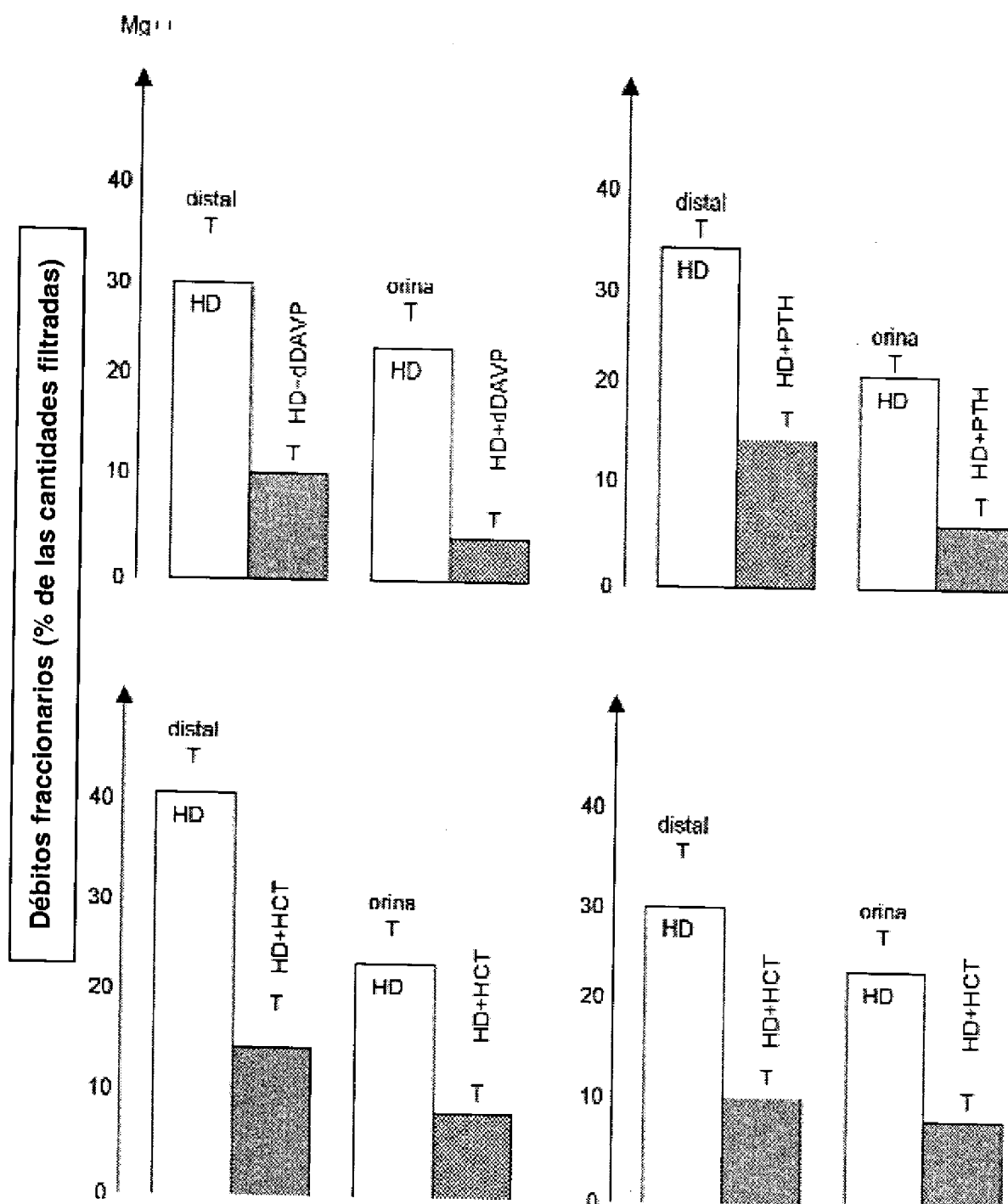


Fig. 1: Efectos in vivo de cuatro hormonas peptídicas sobre el débito fraccionario de Mg determinado simultáneamente a la salida del asa de Henle y en la orina definitiva en el curso de experiencias de micropunciones tubulares realizadas en ratas "hanhormonales" (es decir, ratas Brattleboro homocigotas sometidas a tiroparatiroidectomía aguda y que reciben una perfusión de somatostatina con el fin de inhibir la secreción de glucagón) y en ratas hanhormonales a las que se administró, en perfusión continua, una de las cuatro hormonas faltantes. El débito de administración de la hormona fue determinado para llevar la concentración plasmática de la misma a un nivel cercano del que se obtiene a través de la estimulación máxima de los procesos de secreción endógenos.

DDAVP= 1 de amino-8-D-arginina vasopresina;

PTH:hormona paratiroidea;

HCT = calcitonina;

GLU:glucagón

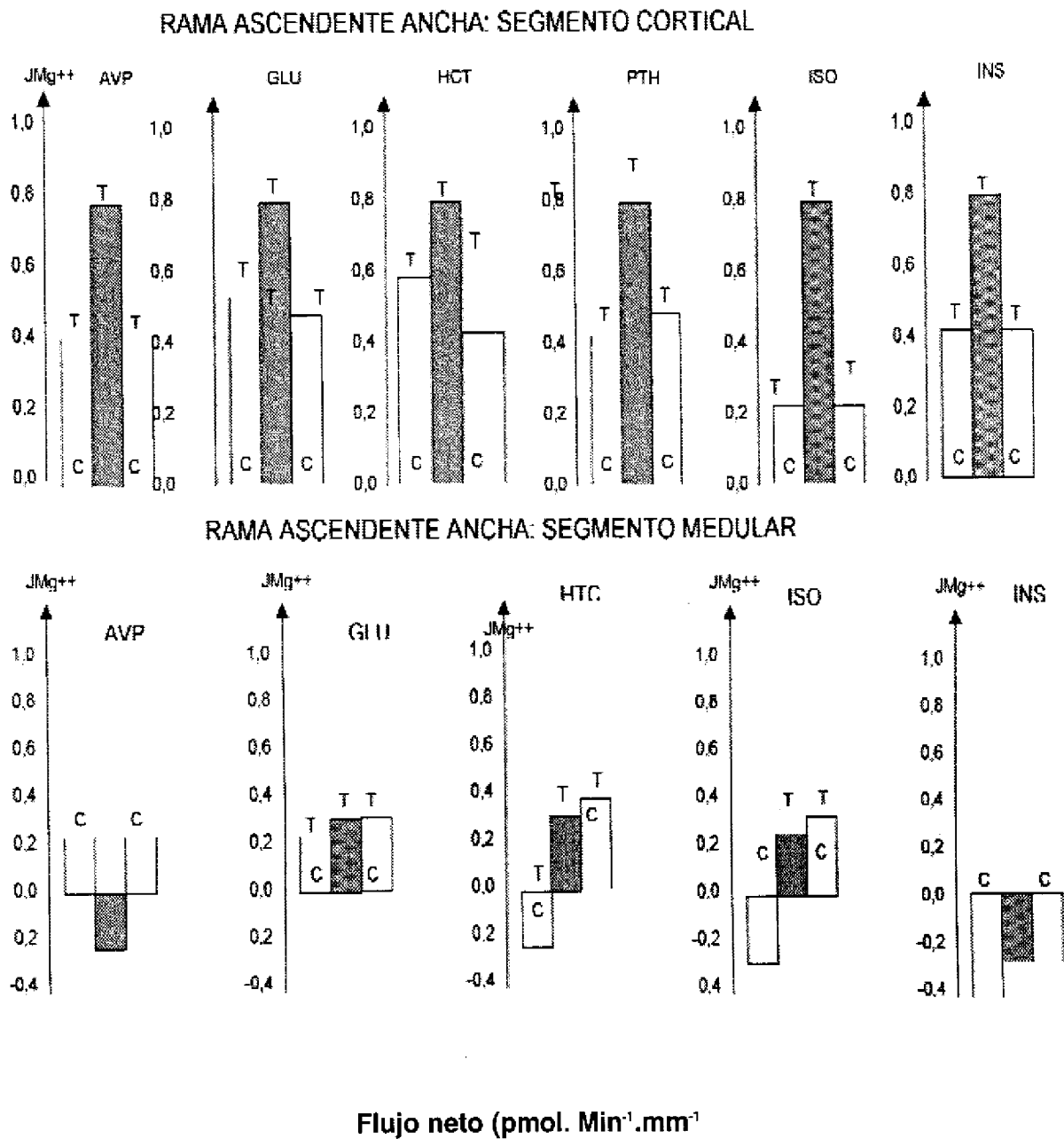


Fig. 2.- Efectos in vitro de agonistas o de hormonas sobre el transporte de Mg por segmentos tubulares corticales (arriba) y medulares (abajo) de ramas ascendentes anchas de ratón. Los túbulos han sido perfundidos con un débito cercano a las 2 nl/mm en ausencia (C) o en presencia (achurado) de una de las hormonas en el baño.

AVP: 10-10M; GLU: 1,2 x 10⁻⁸M;
 HCT: 3 x 10⁻⁸M; PTH: 10⁻⁸M;
 Isoproterenol (ISO): 10⁻⁷ M; Insulina (INS): 10⁻⁷M.

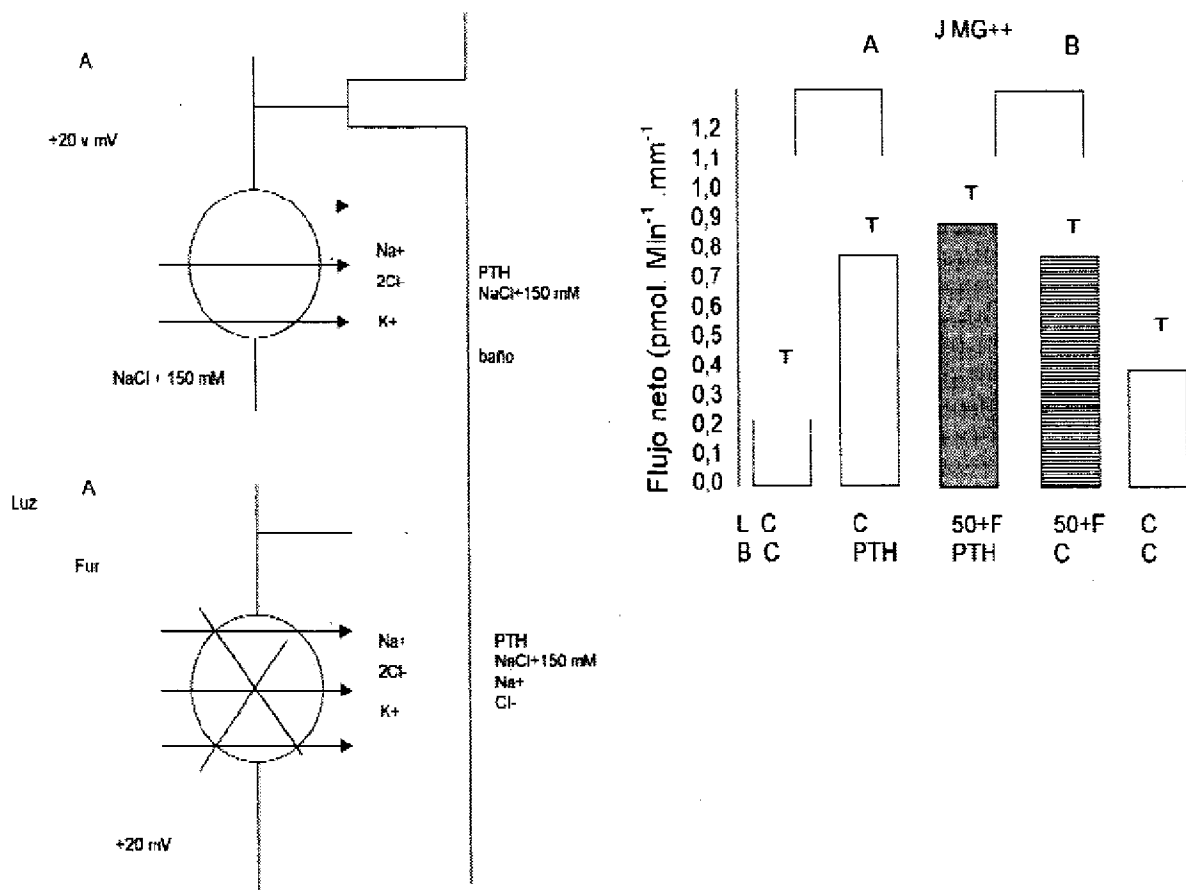


Fig.3.- Efectos de la PTH sobre el transporte paracelular de Mg en segmentos corticales de ratón perfundidos in vitro. El túbulo es sometido, sucesivamente, a dos situaciones experimentales:

Situación A: Los efectos de la PTH son estudiados en túbulos perfundidos con soluciones idénticas (150 mM de Na Cl) en ambos lados del epitelio. Se observa que la PTH aumenta muy significativamente el flujo de resorción de Mg. Durante la actividad de PTH, la diferencia de potencial es de +20 mV.

Situación B: La PTH, siempre presente en el baño, se reemplaza la solución que perfunde a la luz tubular por una solución de Na Cl 50mM, que contiene furosemida, para bloquear al NaK₂Cl apical, y anular así los flujos transeleculares de Na Cl, mientras el baño permanece a 150 mM. El potencial de dilución así creado mantiene al potencial en un valor muy próximo a +20mV. Se observa que el flujo de Mg no se halla afectado por la supresión de los flujos transepiteliales. La sustracción de PTH del baño se traduce por una disminución del flujo neto de Mg, aun cuando la diferencia de potencial permanezca rigurosamente idéntica a la que prevalecía en el período anterior. El retorno a las condiciones iniciales permite volver al flujo de Mg inicial.

FUR= Furosemida.

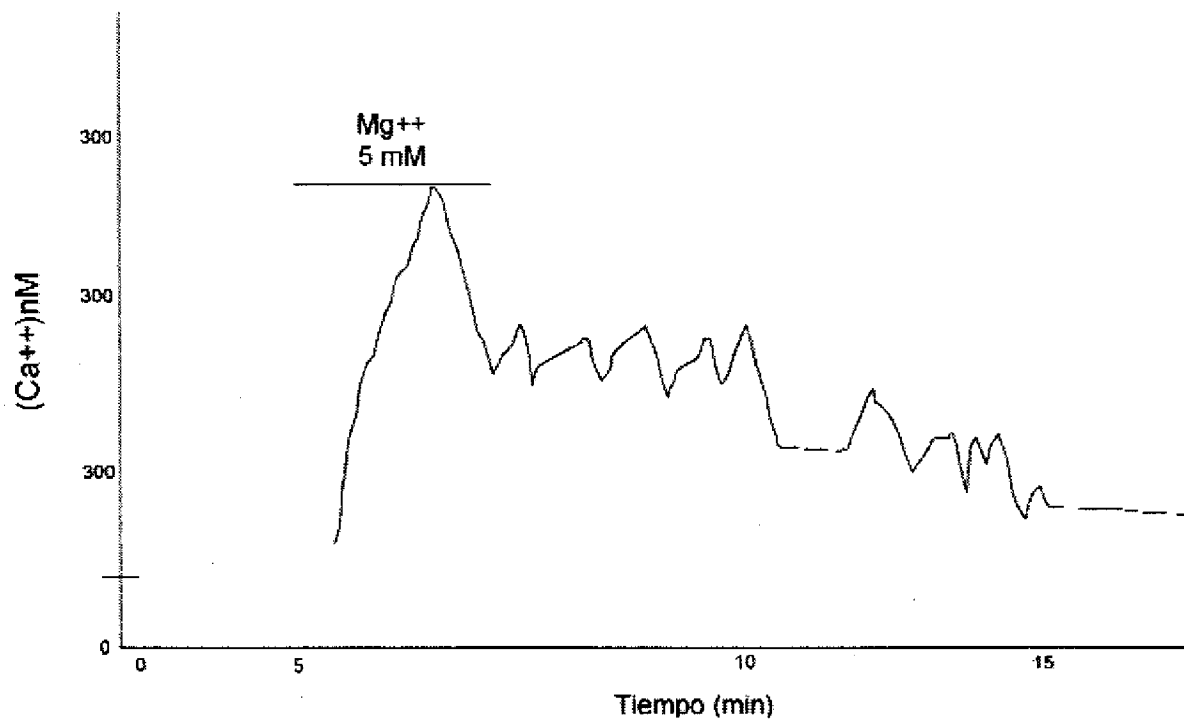


Fig.4.- Efectos del Mg extracelular sobre el Ca intracelular del epitelio cortical de la rama ascendente ancha del nefrón de rata. Se observa que la adición en el baño de 5mM de Mg durante 3 minutos aumenta transitoriamente el contenido de Ca intracelular. La cinética de la respuesta es análoga a la que se observa cuando se aumenta la concentración de Ca extracelular mediante una maniobra análoga. Sin embargo, la amplitud de la respuesta al calcio es tres veces más alta que la que se registra con el magnesio.