



# Mecanismos implicados en la nefrotoxicidad producida por aminoglucósidos

A. I. Morales, M. Arévalo y F. Pérez-Barriocanal

Instituto Reina Sofía de Investigación Nefrológica. Departamento de Fisiología y Farmacología. Universidad de Salamanca.

Desde su introducción en terapéutica en 1944, los aminoglucósidos (AMG) han constituido una familia de antibióticos ampliamente utilizados, cuya principal ventaja ha sido su actividad bactericida contra microorganismos gram negativos, representando en muchos casos, la única alternativa terapéutica contra gérmenes resistentes a otros antibióticos.

Los aminoglucósidos (neomicina, gentamicina, tobramicina, amikacina, netilmicina), son antibióticos naturales o semisintéticos de estructura heterocíclica formados por dos o más aminoazúcares unidos por enlaces glucosídicos a un anillo aminociclitol.

Desde el punto de vista farmacocinético, poseen escasa absorción oral, por lo que la administración intravenosa es la más empleada en pacientes con infecciones severas. Debido a su tamaño y carga policitiónica, los AMG atraviesan pobremente las membranas biológicas que carecen de mecanismo de transporte, esto explica las bajas concentraciones alcanzadas en casi todos los tejidos humanos. Las células de los túbulos proximales renales constituyen una excepción, ya que poseen un mecanismo de transporte particular y pueden concentrar AMG hasta niveles muy superiores a los encontrados en plasma. Los AMG no son metabolizados por el ser humano y se excretan inalterados por los riñones. Sufren una filtración y una pequeña porción, pero toxicológicamente importante del AMG total filtrado, es reabsorbido por las células de los túbulos proximales<sup>1</sup>. Esta reabsorción implica la unión de los AMG a fosfolípidos con carga negativa, situados en el ribete en cepillo de las membranas de los túbulos renales con posterior internalización por pinocitosis<sup>2-6</sup>. No existen evidencias concluyentes de secreción tubular de estos agentes, cuantitativamente

la mayor parte de los AMG excretados en la orina se corresponden con los filtrados.

Su utilización está limitada por la nefrotoxicidad que producen. Se sabe que 8-26% de individuos que reciben un AMG durante varios días muestran trastorno renal<sup>7-9</sup> siendo el daño proporcional a la duración del tratamiento, pudiendo incrementarse hasta en un 50% en el caso de terapias prolongadas<sup>10</sup>.

La primera sintomatología de daño renal tras la administración de AMG se caracteriza por un aumento de la excreción urinaria de varias enzimas tubulares (alanina aminopeptidasa,  $\beta$ -D-glucosamina y fosfatasa alcalina), proteinuria e incremento en la excreción de  $\beta$ 2-microglobulina. Más tarde, aparecen modificaciones en el sedimento urinario (leucocituria y cilindruria), para finalmente disminuir la filtración glomerular, provocando un aumento del nitrógeno ureico (BUN) y de la creatinina plasmática. Constituyen las alteraciones enzimáticas marcadores precoces de los efectos renales<sup>11</sup>, siendo la determinación de la actividad de la N-acetil-beta-D-glucosaminidasa (NAG) en orina la más utilizada para la detección temprana de los efectos tóxicos. La separación de los isoenzimas de NAG por cromatografía en columna de cambio iónico o por electroforesis es un método que nos indica los sitios específicos de daños renal<sup>12</sup>. Asimismo, se ha propuesto la gamma-glutamyl-transpeptidasa en la determinación diagnóstica de fallo renal inducido por AMG<sup>13</sup>. La determinación urinaria de Cu y Zn es también un indicador de deterioro renal, ya que su concentración en orina se incrementa por administración de AMG, posiblemente por alteraciones a nivel de la reabsorción. Desafortunadamente el alto coste de la técnica hace este método impracticable en el uso clínico diario<sup>14</sup>.

Los cambios histológicos incluyen en una primera fase alteraciones en los lisosomas, seguidos por alteraciones en el borde en cepillo, retículo endoplasmático, mitocondrias y citoplasma, llegando finalmente, en casos de gran toxicidad, a la necrosis celular (fig. 1). También se ha observado prolifera-

**Correspondencia:** Dr. Fernando Pérez-Barriocanal  
Departamento de Fisiología y Farmacología  
Edificio Departamental  
Campus Miguel de Unamuno  
37007 Salamanca

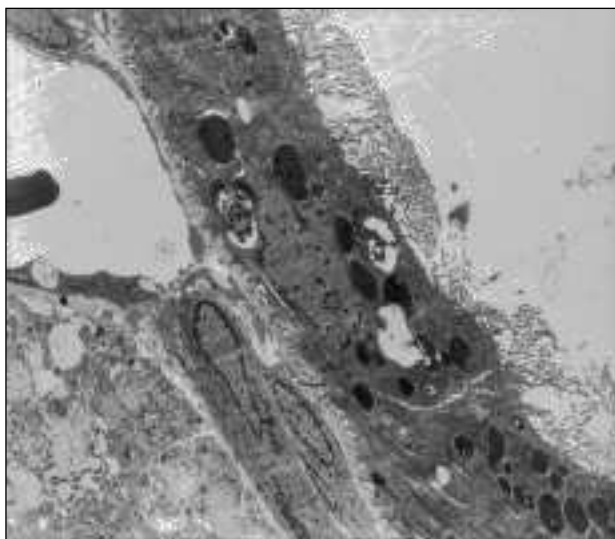


Fig. 1.—Microfotografía electrónica de la corteza renal de un animal tratado con un AMG. Obsérvese un túbulo proximal viable pero con pérdida parcial del ribete de microvellosidades, aumento del número de vacuolas y lisosomas y aparición de cuerpos multivesiculares. X4583.

ción de las células del túbulo proximal, inmediatamente después del inicio de la nefrotoxicidad.

Todos los AMG son capaces de causar acción tóxica renal, si bien, existen diferencias individuales entre los miembros de esta familia con respecto a su potencial nefrotóxico. La acumulación del antibiótico en el tejido renal es un importante factor de riesgo en la toxicidad. En la rata, gentamicina, tobramicina o kanamicina administradas por vía subcutánea alcanzan altas concentraciones en la corteza renal, mientras que la netilmicina considerada menos nefrotóxica, se elimina con mayor rapidez<sup>15</sup>, lo que podría explicar su menor toxicidad. Estos resultados no se pueden trasladar de forma irrefutable al hombre, he hecho, los ensayos clínicos realizados en pacientes evaluando eficacia y toxicidad de netilmicina frente a gentamicina, no han encontrado evidencias convincentes del menor daño renal de netilmicina<sup>16</sup>.

## MECANISMOS

Son diversas las hipótesis que se han formulado en los últimos años para intentar revelar los posibles mecanismos implicados en la nefrotoxicidad producida por AMG, llegándose a la conclusión de que no hay un sólo mecanismo, sino que pudieran ser varios los responsables del efecto tóxico.

Algunas de las características fisicoquímicas y farmacocinéticas de estos compuestos, como son: un rápido transporte, una gran acumulación y una ávida retención durante períodos prolongados, contribuyen definitivamente a la manifestación del daño renal.

El transporte de AMG se realiza principalmente a través del ribete en cepillo luminal de las células de los túbulos renales, e incluye la unión inicial del AMG (con carga positiva) al fosfatidilinositol con carga negativa dentro de la membrana<sup>2,3,6,17</sup>. Se ha correlacionado la afinidad del AMG por la membrana del borde en cepillo con la nefrotoxicidad potencial del mismo<sup>18</sup>. Sin embargo estudios más recientes sugieren que la afinidad de unión no es un parámetro determinante en la patogénesis de estos antibióticos<sup>19</sup>. Otro de los estudios realizados en este sentido, apunta a que un incremento de los sitios de unión del AMG a las vesículas de la membrana del borde en cepillo pudiera estar relacionado con un aumento de la nefrotoxicidad, dicho incremento se favorecería con agentes que inducen cambios de carga en la membrana y aumentan cuantitativamente la unión del AMG, esta conclusión podría explicar la potenciación nefrotóxica producida por administración conjunta de vancomicina y tobramicina, habiéndose comprobado *in vitro*, que la unión de tobramicina a las vesículas de membrana fue mayor en vesículas preincubadas con vancomicina<sup>20</sup>.

Se considera que la internalización se realiza por pinocitosis, formándose vesículas que luego coalescen con lisosomas, cuyo interior cargado negativamente atrapa de forma efectiva el AMG<sup>1,21</sup>. La extensa acumulación de estos compuestos está confinada a la corteza renal, donde se pueden encontrar acumulaciones de 5-50 veces más elevadas que en el plasma<sup>22</sup>. Dentro de la corteza renal, los AMG se localizan exclusivamente en las células de los túbulos proximales<sup>1,23</sup>. Morfológicamente causan una acumulación de estructuras multilamelares dentro de los lisosomas, que se llaman cuerpos mieloides<sup>21,22,24</sup> (fig. 2).

Debido a la acumulación de los AMG en los lisosomas, el daño producido sobre ellos tiene importantes implicaciones funcionales, entre ellas, la alteración de la permeabilidad de la membrana y su agregación con las de los lisosomas adyacentes<sup>25</sup>. Algunos autores<sup>26-28</sup> han apuntado que la nefrotoxicidad de gentamicina se produce fundamentalmente por una fosfolipidosis provocada por una inhibición de enzimas responsables del metabolismo de los lípidos (fosfolipasas lisosomales A1, A2 y C1), habiéndose asociado también con una pérdida de la actividad de la esfingomielinasa<sup>29,30</sup>. Considerando que hay un daño importante a nivel de membrana, diversos trabajos han sugerido que la administración

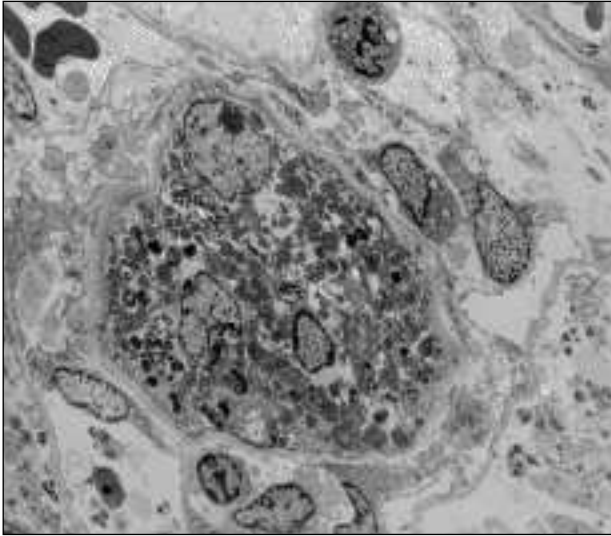


Fig. 2.—Microfotografía electrónica de la corteza renal de un animal tratado con un AMG. Obsérvese la necrosis prácticamente total de los túbulos renales. X3149.

de fosfolípidos (constituyentes esenciales de las membranas) podría reparar y acelerar la regeneración de ésta, en los casos en los que se ha dañado por agentes como la gentamicina<sup>31</sup>. La fosfolipidosis finalmente conllevaría destrucción del orgánulo y subsecuentemente necrosis celular.

Los AMG inhiben la *fosfolipasa C* específica para fosfatidilinositol citosólico<sup>32</sup>, esta inhibición es particularmente importante, ya que esta enzima es responsable de un paso temprano y crítico de la biosíntesis de prostaglandinas y prostaciclina. Un efecto a este nivel, inhibe la producción de prostaglandinas vasodilatadoras, permitiendo la acción vasoconstrictora, lo que lleva a una vasoconstricción arteriolar y una disminución en la filtración glomerular<sup>33</sup>.

También se ha relacionado la activación de la *fosfolipasa A2* con la administración de AMG<sup>34</sup>. La *fosfolipasa A2* cataliza a partir de fosfolípidos de membrana, la formación de ácido araquidónico y factor activador de plaquetas (PAF). El ácido araquidónico por la vía de la ciclooxigenasa daría lugar a la síntesis de *tromboxanos (TXA2)* y *prostaglandinas (PGE)*. Papanikolau y cols.<sup>35</sup>, describieron como la administración de inhibidores de la síntesis de TXA2 ejercía una acción protectora frente a gentamicina y Assael y cols.<sup>36</sup>, comprobaron que la coadministración de gentamicina y ácido-acetil-salicílico (inhibidor de PGE) ejercía igualmente un efecto beneficioso, sugiriendo con ello, que el incremento en TXA y PGE, mediadores vasoconstrictores, pudieran jugar

un papel en la generación del fallo renal agudo producido por AMG. Experimentos de nuestro laboratorio han demostrado que la administración de suplementos de fosfolipasa A2 inhiben el efecto contráctil y proliferativo de la gentamicina sobre las células mesangiales<sup>34</sup>.

Por su parte el PAF, produce disminución en la tasa de filtración glomerular cuando se administra por vía parenteral<sup>37-39</sup>. Diversos estudios han mostrado un incremento en la producción de PAF en ratas tratadas con gentamicina y una reversión parcial de los efectos de la misma con antagonistas de los receptores de PAF<sup>40,41</sup>, lo que sugiere que este mediador local pudiera estar implicado en el mecanismo tóxico a través de un efecto vasoconstrictor que provocaría un descenso en la presión efectiva de ultrafiltración y una disminución de la tasa de filtración glomerular, efectos que se evidencian en los tratamientos con AMG.

Otra de las enzimas que se ve afectada por la administración de AMG es la *Na-K adenosina trifosfatasa* (Na-K ATPasa) localizada en la porción basolateral de la membrana plasmática<sup>42</sup>. En homogenados corticales de ratas tratadas crónicamente con gentamicina la actividad de esta enzima disminuye<sup>43-45</sup>. Estos cambios, así como la pérdida de integridad de la Na-K ATPasa, se han señalado como responsables del efecto nefrotóxico<sup>46</sup>, ya que esta enzima regula el transporte de electrolitos intracelulares y volumen celular.

A nivel *mitochondrial* los AMG: interfieren en la generación de ATP, alterando funciones de transporte celular dependientes del mismo, producción de energía y respiración celular. Se ha evidenciado necrosis celular tras la deplección de ATP en modelos experimentales de nefrotoxicidad<sup>47</sup>. Se ha visto también, como en este orgánulo se potencia la producción de radicales libres en presencia de gentamicina<sup>48,49</sup>.

La formación de *radicales libres de oxígeno* es otro de los mecanismos que se han relacionado con la nefrotoxicidad de estos compuestos<sup>50,51</sup>. Los radicales libres formados durante las reacciones oxidativas por oxidasas asociadas al citocromo P-450 y la xantina-oxidasas, pueden generar moléculas muy inestables que reaccionan químicamente con macromoléculas celulares como proteínas y ácidos nucleicos, produciendo daño celular por modificaciones covalentes<sup>52</sup>. El glutatión (GSH) constituye un elemento esencial en la defensa antioxidante, estructuralmente es un pequeño péptido constituido por tres aminoácidos: glutamina, cisteína y glicina, siendo el grupo sulfhidrilo (-SH) de la cisteína el responsable de la capacidad neutralizadora de radicales libres. La disminución de GSH conlleva a un desequilibrio en el sistema oxi-

dante GSH/GSSH (glutathion reducido), cuyo resultado se expresa como un fallo en la acción autoprotectora de la célula. Diversos estudios han evidenciado una disminución en la GSH por la administración de gentamicina<sup>53-55</sup>, sugiriendo éste como un posible mecanismo nefrotóxico. Partiendo de esta hipótesis, otro trabajo estudió el efecto de la administración exógena de GSH a ratas tratadas con gentamicina, considerando que esto podría ser útil en la reducción del daño renal. Los resultados encontrados no revelaron evidencias positivas de protección, concluyendo que los radicales libres no son el principal mediador de la nefrotoxicidad experimental por gentamicina<sup>56</sup>. Esto está en concordancia con lo señalado por Wu y cols.<sup>57</sup>, que apuntaban que la nefrotoxicidad de gentamicina no afecta significativamente a la concentración renal de GSH. Sin embargo, en otros trabajos la suplementación de Fe en la dieta o la administración del mismo por vía intramuscular, agravó la nefrotoxicidad por gentamicina<sup>58,59</sup>. El Fe es un inductor de peroxidación lipídica y por lo tanto, podría potenciar el efecto tóxico de la gentamicina a través de la formación de radicales libres. De hecho, la administración de desferroxamina, un quelante de Fe, ejerció un efecto protector<sup>60</sup>; por una parte la formación del quelato reduciría los efectos generadores de radicales libres inducidos por el anión ferroso ( $\text{Fe}^{2+}$ )<sup>61</sup> y por otra la desferroxamina estaría directamente implicada en la producción de óxido nítrico (NO) por un aumento en la actividad de la sintasa del óxido nítrico inducible (NOSi)<sup>62</sup>. Como se detallará más adelante la acción vasodilatadora del NO ejerce un efecto beneficioso frente a la nefrotoxicidad producida por gentamicina.

Otros autores<sup>63-65</sup>, observaron en ratas Wistar que la preadministración de Zn (10 mg/kg/día s. c. 5 días) disminuía el efecto adverso de la gentamicina, pudiendo estar implicada la inducción de la síntesis de metalotieninas, las cuáles actuarían como barridores de radicales libres generados por gentamicina. Efectos similares se han encontrado con Se, vitamina E<sup>66</sup> y ácido ascórbico<sup>59</sup>, estas sustancias actúan como antioxidantes en los procesos fisiológicos de degradación de los radicales superóxido e hidroxilo hasta oxígeno y agua; todas ellas administradas previamente al AMG disminuyeron la nefrotoxicidad.

Estudios realizados con methimazol y aceite de pescado<sup>67</sup> mostraron que estas sustancias administradas por vía oral y simultáneamente con gentamicina, reducían los efectos secundarios de la misma, incluyendo nefrotoxicidad y sin comprometer la actividad antibiótica. El methimazol pudiera actuar como antioxidante a nivel renal, mientras que el aceite de pescado contrarrestaría algunas alteraciones lipídicas producidas por el AMG.

Otros trabajos que apoyan el papel de los radicales libres en la nefrotoxicidad son los realizados con la enzima superóxido dismutasa (SOD)<sup>68,69</sup>. Esta enzima es clave en el proceso fisiológico de eliminación de radicales libres y se ha evidenciado que la actividad de la misma está disminuida en los tratamientos con gentamicina, lo cual justificaría que el incremento en la producción de radicales libres contribuyera a los efectos tóxicos renales; de hecho la administración de la SOD revirtió, al menos en parte, la nefrotoxicidad.

A pesar de la falta de acuerdo sobre este punto, son numerosos los estudios en los cuales se evidencia que la administración de antioxidantes protege frente al daño renal producido por AMG.

La implicación de *factores vasoconstrictores* como causantes de la disminución del flujo sanguíneo renal y posterior aparición del fracaso renal agudo en respuesta al tratamiento con AMG, ha sido ampliamente documentada con estos compuestos. La gentamicina activa el *sistema renina-angiotensina*<sup>70</sup>, por lo que la administración de corticoides, inhibidores del sistema renina-angiotensina, atenúa la nefropatía producida por la misma<sup>71</sup>, también se ha encontrado una elevación de la *renina* glomerular incluso una semana después de finalizar el tratamiento<sup>72</sup>. La liberación de *endotelina*, otro mediador vasoconstrictor, podría estar implicado en la nefrotoxicidad por administración de AMG<sup>73</sup>. Se ha visto como la endotelina es liberada por las células endoteliales en respuesta a una estimulación de angiotensina II. El mecanismo por el cual la angiotensina II induce un incremento de endotelina parece estar relacionado con una movilización de calcio intracelular y activación de la proteína quinasa C en células endoteliales<sup>74</sup>. La estimulación de la síntesis y liberación de *PAF* también se ha relacionado con el daño renal como ya se ha indicado<sup>40,41</sup>. Otro de los efectos que esperaría encontrarse como causantes de vasoconstricción, sería la inhibición de factores vasoactivos como el *óxido nítrico*, sin embargo estudios hechos en nuestro laboratorio han demostrado el efecto contrario, es decir, una producción glomerular aumentada de NO en ratas tratadas con gentamicina<sup>75,76</sup>, cuya función renal se deterioró cuando se le administraba un inhibidor de la síntesis de NO (L-NAME)<sup>77</sup>, estos resultados sugieren que el NO, cuya síntesis está estimulada por gentamicina, podría tener la función de proteger al riñón de la vasoconstricción e isquemia que produce este agente nefrotóxico.

A *nivel glomerular*, los AMG inducen un descenso en la tasa de filtración glomerular (TFG), del flujo plasmático renal (FPR) y del coeficiente de ultrafiltración (Kf), e incrementan la resistencia glomerular

aferente y eferente<sup>78</sup>. Schor y cols.<sup>79</sup>, han observado que la disminución de la TFG inducida por estos antibióticos es debida a un marcado descenso en el Kf, sugiriendo así una nueva alternativa fisiopatológica a la nefrotoxicidad inducida por los mismos. Varios autores han relacionado la disminución de Kf con la contracción de células mesangiales inducida por sustancias vasoactivas<sup>80</sup>. Se ha comprobado que el descenso del Kf es similar al provocado por la infusión de angiotensina II<sup>81</sup> y que la administración de un inhibidor de la enzima de conversión de la angiotensina I (captopril) durante el período de administración de los AMG, evita la reducción del Kf<sup>78</sup>. Luft y cols.<sup>82</sup>, han demostrado el efecto beneficioso del captopril en la insuficiencia renal inducida por estos agentes, pese a que el daño histológico tubular es similar. Por tanto, la reducción de Kf parece ser secundaria a la generación intrarrenal de angiotensina II<sup>79</sup>. Por otra parte, se ha visto que el efecto de los AMG sobre la hemodinámica glomerular está mediado por la liberación de sustancias vasoactivas como el PAF, habiéndose podido comprobar que sustancias antagonistas de PAF producen un aumento en el Kf<sup>83</sup>.

En base a los estudios realizados sobre los posibles mecanismos de acción implicados en la nefrotoxicidad por AMG, se han desarrollado estrategias clínicas y experimentales con el fin de disminuir la toxicidad y aumentar la seguridad de estos compuestos. La administración de agentes protectores (tabla I) ha sido uno de los objetivos de los últimos

años y parece tener un futuro prometedor en la práctica clínica, de cara a disminuir, retrasar o abolir la nefrotoxicidad de los AMG.

## BIBLIOGRAFÍA

1. Silverblatt FJ, Kuehn C: Autoradiography of gentamicin uptake by the rat proximal tubular cell. *Kidney Int* 15: 335-345, 1979.
2. Lipsky JJ, Cheng L, Saktor B, Lietman PS: Gentamicin uptake by renal tubule brush border membrane vesicles. *J Pharmacol Exp Ther* 215: 390-393, 1980.
3. Sastrasin M, Kanauss TC, Weinberg JM, Humes HD: Identification of aminoglycoside binding site in rat renal brush border membranes. *J Pharmacol Exp Ther* 222: 350-358, 1982.
4. Senekjian HO, Knight TF, Weinman EJ: Micropuncture study of the handling of gentamicin by the rat kidney. *Kidney Int* 19: 416-423, 1981.
5. Pastoriza-Muñoz E, Bowman RL, Kaloyanides GJ: Renal tubular transport of gentamicin in the rat. *Kidney Int* 16: 440-450, 1979.
6. Frommer JP, Senekjian HO, Babino H, Weinman EJ: Intratubular microinjection study of gentamicin transport in the rat. *Mineral Electrolyte Metab* 9: 108-112, 1983.
7. Laurent G, Kishore BK, Tulkens PM: Aminoglycosides induced phospholipidosis and nephrotoxicity. *Biochem Pharmacol* 40: 2383-2392, 1990.
8. Fillastre JP, Godin M: An overview of drug-induced nephropathies, in Goldstein RD (ed): Mechanisms of Injury in renal disease and toxicity. Boca raton, FL.CRC pág 123-141, 1992.
9. Kacew S, Bergeron S: Pathogenic factors in aminoglycoside-induced nephrotoxicity. *Toxicol Lett* 51: 241-259, 1990.
10. Leehey DJ, Braun BI, Tholl DA, Chung LS, Gross CA, Ro-back JA, Lentino JR: Can pharmacokinetic dosing decrease nephrotoxicity associated with aminoglycoside therapy? *J Am Soc Nephrol* 4: 81-90, 1993.
11. Whiting PH, Brown PA: The relation between enzymuria and kidney enzyme activities in experimental gentamicin nephrotoxicity. *Renal Failure* 18: 899-909, 1996.
12. Marchewka Z, Dlugosz A: Enzymes in urine as markers of nephrotoxicity of agents and aminoglycoside antibiotics. *Int Urol Nephrol* 30: 339-348, 1998.
13. Rives BJ, Walter PA, O'Brien TD, King VL, Polzin DJ: Evaluation of urine gamma-glutamyl transpeptidase to creatinine ratio as a diagnostic tool in an experimental model of aminoglycoside-induced acute renal failure in the dog. *J Am Anim Hosp Assoc* 32: 323-336, 1996.
14. Chmielnicka J, Szymanski JA, Brzeznicza EA, Kaluzynski A: Changes in concentrations of essential metals in kidneys and urine is indices of gentamicin nephrotoxicity in female Wistar rats. *Pharmac Toxicol* 71: 185-189, 1992.
15. Pastoriza-Muñoz E, Josepovitz C, Ramsammy I, Kaloyanides GJ: Renal handling of netilmicin in the rat with streptozotocin-induced diabetes mellitus. *J Pharmacol Exp Ther* 241: 166-173, 1987.
16. Tange RA, Dreschler WA, Prins JM, Buller HR, Kuijper EJ, Speelman P: Ototoxicity and nephrotoxicity of gentamicin vs netilmicin in patients with serious infections. A randomized clinical trial. *Clin Otolaryngol* 20: 118-123, 1995.
17. Cullier VU, Lietman PS, Mith WE: Evidence for luminal uptake of gentamicin in perfused rat kidney. *J Pharmacol Exp Ther* 210: 247-251, 1979.

**Tabla I.** Relación bibliográfica de diferentes agentes protectores frente a la nefrotoxicidad de los AMG.

Agente	Referencia
Ácido ascórbico	59
Aceite de pescado	55, 67
Captopril	82
Carbonato de calcio	84
Ciclodextrin	85
Desoxicorticosterona	71
Dextran Sulfato	86
Fosfolípidos	31
Litio	87
L-Tiroxina	45
Methimazole	67, 88
Piridoxal-5-phosphato	78
Poliaspartato	89, 90
Selenio	66
SOD	68, 69
Vitamina B	91
Vitamina E	66
Zinc	64, 64, 65

18. Humes HD: Aminoglycoside nephrotoxicity. *Kidney Int* 22: 900-911, 1988.
19. Tood JH, Hottendorf GH: Renal brush border membrane vesicle aminoglycoside binding and nephrotoxicity. *J Pharmacol Exp Ther* 274: 258-263, 1995.
20. Yano Y, Hirakoa A, Oguma T: Enhancement of tobramycin binding to rat renal brush border membrane by vancomycin. *J Pharmacol Exp Ther* 274: 695-699, 1995.
21. Silverblatt F: Pathogenesis of nephrotoxicity of cephalosporins and aminoglycosides. A review of current concepts. *Rev Infect Dis* 4: S360-365, 1982.
22. Edwards CQ, Smith CR, Baugman KL, Lietman PS: Concentrations of gentamicin and amikacin in human kidney. *J Antimicrob Agents Chemother* 9: 925-927, 1976.
23. Kuhar MJ, Mak LL, Lietman PS: Localization of <sup>3</sup>H-gentamicin in the proximal renal tubule of the mouse. *Antimicrob Agents Chemother* 15: 131-133, 1979.
24. Houghton DC, Campbell-Boswell MV, Bennett WM, Potter GA, Brooks RE: Myeloid bodies in the renal tubules of humans: relationship to gentamicin therapy. *Clin Nephrol* 10: 140-145, 1978.
25. De Brow ME, Paulus GI, Verpooten GA, Roels F, Buysens N, Wedeen R, Van Hoof F, Tulkens PM: Early effects of gentamicin, tobramycin and amikacin on the human kidney. *Kidney Int* 25: 643-652, 1984.
26. Laurent G, Carlier MB, Rollan B, Van Hood F, Tulkens P: Mechanism of aminoglycoside-induced lysosomal phospholipidosis *in vitro* and *in vivo* studies with gentamicin and amikacin. *Biochem Pharmacol* 31: 3860-3870, 1982.
27. Ramsammy LS, Josepovitz C, Lane B, Kaloyanides GJ: Effect of gentamicin on phospholipid metabolism in cultured rabbit proximal tubular cells. *Am J Physiol* 356: 204-213, 1989.
28. Abdel Gayoum AA, Ali BH, Gawarsha K, Bashir AA: Plasma lipid profile in rats with gentamicin nephrotoxicity. *Human and Exp Toxicol* 12: 371-375, 1993.
29. Albert-Tulkens G, Van Hoof F, Tulkens P: Gentamicin-induced lysosomal phospholipidosis in cultured rat fibroblasts. Quantitative ultrastructural and biochemical study. *Lab Invest* 40: 481-491, 1979.
30. Carlier MB, Laurent G, Claes PJ, Vanderhaeghe HJ, Tulkens PM: Inhibition of lysosomal phospholipases by aminoglycoside antibiotics: *in vitro* comparative studies. *Antimicrob Agents Chemother* 23: 440-449, 1983.
31. Chan MK, Chan KW, Ng WL: Amelioration of gentamicin nephrotoxicity by phospholipids. *Nephrol Dial Transplant* 6: 608-614, 1991.
32. Lipsky JJ, Lietman PS: Aminoglycoside inhibition of a renal phosphatidylinositol phospholipase C. *J Pharmacol Exp Ther* 220: 287-292, 1981.
33. McNeil JS, Jackson B, Nelson L, Butkus DE: The role of prostaglandins in gentamicin-induced nephrotoxicity in the dog. *Nephron* 33: 202-207, 1983.
34. Martínez-Salgado C, Rodríguez-Barbero A, Rodríguez-Puyol D, Pérez de Lema G, López-Novoa JM: Involvement of phospholipase A2 in gentamicin-induced rat mesangial cell activation. *Am J Physiol* 273: F60-F66, 1997.
35. Papanikolaou N, Peros G, Morphake P, Gkikas G, Maraghiannis D, Tsipis G, Kostopoulos K, Arambtaze C, Gkikas EL, Bariety J: Does gentamicin induce acute renal failure by increasing renal TX2 synthesis in rats. *Prostaglandin Leuk Essential Fatty Acids* 45: 131-136, 1992.
36. Assael BM, Chiabrando C, Gagliardi L, Nosedà A, Bamonte F, Salmona M: Prostaglandins and aminoglycoside nephrotoxicity. *Toxicol App Pharmacol* 78: 386-394, 1985.
37. Pirotzky E, Bidault C, Gubler MC, Benveniste J: Release of platelet-activating factor, slow-reacting substance and vasoactive amines from isolated rat kidney. *Kidney Int* 25: 404-410, 1984.
38. Camussi G: Potential role of platelet-activating factor in renal pathophysiology. *Kidney Int* 29: 469-477, 1986.
39. Santos JC, Sanz E, Caramelo C, Hernando L, López-Novoa JM: Effect of PAF-acether on renal function in dogs (abstract). *Kidney Int* 28: 287, 1985.
40. Rodríguez-Barbero A, Rodríguez-López AM, González-Sarmiento R, López-Novoa JM: Gentamicin activates rat mesangial cells. A role for platelet-activating factor. *Kidney Int* 47: 1346-1353, 1995.
41. Rodríguez-Barbero A, López-Novoa JM, Arévalo M: Involvement of platelet-activating factor in gentamicin nephrotoxicity in rats. *Exp Nephrol* 5: 47-54, 1997.
42. Lipsky JJ, Lietman PS: Neomycin inhibition of adenosine triphosphatase: evidence for a neomycin-phospholipid interaction. *Antimicrob Agents Chemother* 18: 532-535, 1980.
43. Williams PD, Trimble ME, Crespo L, Holahan PD, Freedman JC, Ross CR: Inhibition of renal Na-K-ATPase by gentamicin. *J Pharmacol* 40: 250-257, 1984.
44. Cronin RE, Newman JA: Protective effect of thyrotoxicosis but not parathyroidectomy on gentamicin nephrotoxicity. *Am J Physiol* 248: F332-F339, 1985.
45. Ali BH, Bashir AA, Tanica MOM: The effect of thyroxine or carbimazole treatment on gentamicin nephrotoxicity in rats. *Human Exp Toxicol* 14: 13-17, 1995.
46. Fukada Y, Malmborg AS, Aperia A: Gentamicin inhibition of Na-K-ATPase in rat kidney cells. *Acta Physiol Scand* 141: 27-34, 1991.
47. Humes HD, Weinberg JM: Alteration in renal tubular cell metabolism in acute renal failure. *Mineral Electrol Metab* 9: 290-305, 1983.
48. Walker PD, Shah SV: Gentamicin enhanced production of hydrogen peroxide by renal cortical mitochondria. *Am J Physiol* 253: C495-C499, 1987.
49. Shah SV, Walker PD: Reactive oxygen metabolites in toxic acute renal failure. *Renal Failure* 14: 363-370, 1992.
50. Halliwell B, Gutteridge JMC: Oxygen toxicity, oxygen radicals, transition metals and disease. *Biochem J* 219: 1-14, 1984.
51. Salter TF: Free-radical mechanisms in tissue injury. *Biochem J* 222: 1-15, 1984.
52. Gutteridge JMC: The role of superoxide and hydroxyl radicals in phospholipid peroxidation catalyzed by iron salts. *FEBS Lett* 150: 454-458, 1984.
53. Ross D: Glutathione, free radicals and chemotherapeutic agents. *Pharma Therap* 37: 231-249, 1988.
54. Ali BH, Abdel Gayoum AA, Bashir AA: Gentamicin nephrotoxicity in rat: some biochemical correlates. *Pharmac Toxicol* 70: 419-423, 1992.
55. Sandhya P, Varalakshmi P: Effect of lipid acid administration on gentamicin-induced lipid peroxidation in rats. *J Appl Toxicol* 17: 405-408, 1997.
56. Stratta P, Segoloni GP, Canavese C, Muzio G, Dogliani M, Serra A, Allemanni P, Salomone M, Caramellino C, Canuto R: Oxygen free radicals are not the main factor in experimental gentamicin nephrotoxicity. *Renal Failure* 16: 445-455, 1994.
57. Wu D, Griffith OW, Reindenberg MM: Lack of glutathione depletion by L-Bathionine-S, R-Sulfoximine on gentamicin nephrotoxicity in rats. *Pharmacol* 40: 250-257, 1990.
58. Kays SE, Crowell WA, Johnson MA: Iron supplementation increases gentamicin nephrotoxicity in rats. *J Nutr* 121: 1869-1872, 1992.
59. Ben-Ismaïl TH, Ali BH, Bashir AA: Influence of iron, dextroamphetamine and ascorbic acid on gentamicin induced nephrotoxicity in rats. *General Pharmacol* 25: 1249-1252, 1994.
60. Walker PD, Shah SV: Evidence suggesting a role for hydroxyl radical in gentamicin-induced acute renal failure in rat. *J Clin Invest* 81: 334-341, 1988.

61. Denicola A, Souza JM, Gatti RM, Augusto O, Radi R: Dexferroxamine inhibition of the hydroxyl radical-like reactivity of peroxynitrite: role of the hydroxamine groups. *Free Radic Biol Med* 19: 11-19, 1995.
62. Melillo G, Taylor LS, Brooks A, Musso T, Cox GW, Varesio L: Functional requirement of the hypoxia-responsive element in the activation of the inducible nitric oxide synthase promoter by the iron chelator desferroxamine. *J Biol Chem* 272: 12236-12243, 1997.
63. Du XH, Yang CL: Mechanism of gentamicin nephrotoxicity in rats and protective effect of zinc-induced metallothionein synthesis. *Nephrol Dial Transplant* 9: 135-140, 1994.
64. Yang CL, Du XH, Zhao JH, Chen W, Han YX: Zinc-induced metallothionein synthesis could protect from gentamicin nephrotoxicity in suspended proximal tubules of rats. *Renal Failure* 16: 61-69, 1994.
65. Baliga R, Ueda N, Walker PD, Shah SV: Oxidant mechanisms in toxic acute renal failure. *Am J Kidney Dis* 29: 465-477, 1997.
66. Ademuyiwa O, Ngaha EO, Ubah FO: Vitamin E and selenium in gentamicin nephrotoxicity. *Human Exp Toxicol* 9: 281-288, 1990.
67. El-Daly ES: Effect of methimazole and fish oil treatment on gentamicin nephrotoxicity in rats. *J Pharm Belg* 52: 149-156, 1997.
68. Ueda N, Guidelt B, Shah SV: Gentamicin-induced mobilization of iron from renal cortical mitochondria. *Am J Physiol* 34: F435-F439, 1993.
69. Nakijama T, Hisida A, Kato A: Mechanisms for protective effects of free radical scavengers on gentamicin-mediated nephropathy in rats. *Am J Physiol* 266: F425-F431, 1994.
70. Hishida A, Nakajidma T, Yamada M, Kato A, Honda N: Roles of hemodynamic and tubular factors in gentamicin mediated nephropathy. *Renal Failure* 16: 109-116, 1994.
71. Yamada MA, Hishida A, Honda N: Effects of desoxycorticosterone acetate plus saline drinking on gentamicin-mediated nephropathy in rats. *Renal Failure* 14: 499-505, 1992.
72. Fernández-Repollet E, Fantauzzi R: Effects of gentamicin on glomerular renin release. *Renal Failure* 16: 71-89, 1994.
73. Lin S: Endothelin and acute renal failure: study on their reaction and possible mechanism. *Chung Hua I Hsueh Tsa Chich (Tapei)* 72: 201-253, 1992.
74. Emori T, Hirata Y, Ohta K, Eguchi S, Imai T, Schichiri M, Marumo F: Cellular mechanism of endothelin-1 by angiotensin and vasopresin. *Hypertension* 18: 165-170, 1991.
75. Rivas-Cabañero L, Montero A, López-Novoa JM: Glomerular nitric oxide synthesis in gentamicin-induced renal failure. *Eur J Pharmacol* 270: 119-121, 1994.
76. Rivas-Cabañero L, Rodríguez-López AM, Martínez-Salgado C, Saura M, Lamas S, López-Novoa JM: Gentamicin treatment increases mesangial cell nitric oxide production. *Exp Nephrol* 5: 23-30, 1997.
77. Rivas-Cabañero L, Rodríguez-Barbero A, Arévalo M, López-Novoa JM: Effect of NG-nitro-arginine methyl ester on nephrotoxicity induced by gentamicin in rats. *Nephron* 71: 203-207, 1995.
78. Schor N, Ichikawa I, Rennke HG, Troy JL, Brenner BM: Pathophysiology of altered glomerular function in aminoglycoside-treated rats. *Kidney Int* 19: 288-296, 1981.
79. Schor N, Ichikawa I, Brenner BM: Mechanism of action of various hormones and vasoactive substances on glomerular ultrafiltration in the rat. *Kidney Int* 20: 442-451, 1981.
80. Mené P, Simonson MJ, Dunn MS: Physiology of the mesangium. *Physiol Rev* 64: 1347-1370, 1989.
81. Blantz RC, Konnen KS, Tucker BJ: Angiotensin II effects upon the glomerular microcirculation and ultrafiltration coefficient of the rat. *J Clin Invest* 57: 419-434, 1976.
82. Luft FC, Rankin LI, Sloan RS, Fineberg NS, Yum MN, Wong L: Comparative low-dose nephrotoxicities of dibekacin, gentamicin and tobramycin. *J Antimicrob Chemother* 9: 297-301, 1982.
83. Pavao dos Santos OF, Boim MA, Barros EJC, Shor N: Role of platelet activating factor in gentamicin and cisplatin nephrotoxicity. *Kidney Int* 40: 742-747, 1991.
84. Ali BH, Basir AA: Comparative modulating effects of captopril, diltiazem, dietary calcium and pyridoxal-5-phosphate on gentamicin-induced nephrotoxicity. *Gen Pharmac* 24: 1279-1283, 1993.
85. Uekama K, Shiotami K, Irie T, Ishimaru Y, Phita J: Protective effects of cyclodextrin sulphate against gentamicin-induced nephrotoxicity in the rat. *J Pharm Pharmac* 45: 745-747, 1993.
86. Kikuchi S, Aramaki Y, Nomaka H, Tsuchiya S: Effects of dextran sulphate on renal dysfunctions induced by gentamicin. *J Pharm Pharmac* 43: 292-293, 1991.
87. Samadian T, Dephour AR, Amini S, Noughnejad PC: Inhibition of gentamicin-induced nephrotoxicity by lithium in rat. *Histo Histopath* 8: 139-147, 1993.
88. Elfarra AA, Duescher RJ, Sausen PJ, O'Hara TM, Cooley AJ: Methimazole protection of rats against gentamicin-induced nephrotoxicity. *Can J Physiol Pharmacol* 72: 1238-1251, 1994.
89. Swan SK, Gilbert DN, Kohlhepp SJ, Kohnen PW, Benett WM: Pharmacologic limits to the protective effect of polyaspartic acid on experimental gentamicin nephrotoxicity. *Antimicrob Agents Chemother* 37: 347-348, 1993.
90. Todd JH, Hottendorf GH: Poly-L-aspartic acid protects cultured human proximal tubule cells against aminoglycoside-induced electrophysiological alterations. *Toxicol Lett* 90: 217-221, 1997.
91. Enriquez JL, Schydlowers MO, Hair H, Keniston R, Nadjem M, Delgado L: Effect of vitamin B supplementation on gentamicin nephrotoxicity in rabbits. *Vet Human Toxicol* 34: 32-36, 1992.