



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

11262 2

FACULTAD DE MEDICINA

DIVISION DE ESTUDIOS DE POSGRADO

EL SISTEMA RENINA ANGIOTENSINA  
ALDOSTERONA EN EL FENOMENO DE  
ANTINATRIURESIS EN EL PERRO

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL GRADO DE  
MAESTRO EN CIENCIAS MEDICAS (NEFROLOGIA)

P R E S E N T A

GERARDO GAMBA AYALA

TUTOR: DR. JOSE CARLOS PEÑA R.

SEDE: INSTITUTO NACIONAL DE LA NUTRICION SALVADOR ZUBIRAN



TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN



Universidad Nacional  
Autónoma de México



## **UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso**

### **DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis está protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

## INDICE

RESUMEN.....	6
INTRODUCCION.....	7
EFECTOS RENALES DE LA AGII.....	10
EFECTOS GLOMERULARES.....	11
EFECTOS TUBULARES.....	16
HIPOTESIS.....	23
OBJETIVOS.....	23
MATERIAL Y METODOS.....	24
DISEÑO EXPERIMENTAL.....	24
METODOS ANALITICOS.....	26
CALCULOS.....	30
INMUNOPEROXIDASA CONTRA AGII.....	31
ANALISIS ESTADISTICO.....	32
RESULTADOS.....	34
DISCUSION.....	54
APENDICES.....	67
BIBLIOGRAFIA.....	74

## INDICE DE FIGURAS

FIGURA 1.....	14
FIGURA 2.....	18
FIGURA 3.....	36
FIGURA 4.....	37
FIGURA 5.....	40
FIGURA 6.....	41
FIGURA 7.....	50
FIGURA 8.....	51
FIGURAS 9 Y 10.....	53

## INDICE DE TABLAS

TABLA 1.....	27
TABLA 2.....	28
TABLA 3.....	29
TABLA 4.....	29
TABLA 5.....	30
TABLA 6.....	45
TABLA 7.....	46
TABLA 8.....	47
TABLA 9.....	48

## RESUMEN

En años recientes se ha demostrado que la angiotensina II (AGII) aumenta la reabsorción de Na<sup>+</sup> en las células del túbulo contorneado proximal.

El presente trabajo se realizó con el objetivo de conocer el papel de la AGII en el origen y el mantenimiento de la antinatriuresis provocada por la depleción aguda de volumen (DAV).

Se estudiaron cuatro grupos de seis perros cada uno. Grupo I.- Expansión salina (ES) (8% del peso corporal). Grupo II.-DAV (2% del peso corporal) seguida de ES. Grupo III.-ES + captopril (400 mg V.O. la noche anterior y 1 mg/kg en bolo I.V. e infusión continua de 20 ug/kg/min el día del experimento). Grupo IV.-DAV seguida de ES + captopril. En todos los animales se midieron: Presión arterial media, hematocrito, volumen urinario, excreción urinaria de sodio y potasio, filtración glomerular (FG) (inulina), flujo sanguíneo renal (FSR) (para-aminohipurato), actividad plasmática de renina (APR), y aldosterona, durante tres periodos (10 minutos cada uno) antes y seis después de la maniobra experimental. En dos perros de cada grupo se estudió el tejido renal con inmunoperoxidasa contra AGII. El análisis estadístico se realizó con ANOVA de muestras repetidas para varios grupos y con ANOVA de una vía para diferencia entre las pendientes.

El aumento en la excreción urinaria de sodio fue mayor en los grupos I y III (396±73 y 218±68 uEq/min) (D.E.+ E.E.) que en los grupos II y IV (148±60 y 86±23 uEq/min),  $p < 0.01$ . La presión arterial fue idéntica en los primeros tres grupos y ligeramente menor en el grupo IV, sin embargo, esta diferencia no alcanzó significancia. No hubo diferencia significativa entre los cuatro grupos en: FG, FSR y electrolitos séricos. La APR aumentó después de la DAV y disminuyó durante la ES en los grupos II y IV. La inmunoperoxidasa para AGII fue positiva en los tubulos proximales del grupo II pero negativa para el grupo IV. La aldosterona aumentó después de la DAV en el grupo II, pero no en el IV.

El aumento en la excreción de sodio urinario fue menor en los animales expuestos a DAV. Esta antinatriuresis no se explica por diferencia en: FG, FSR o presión arterial media. Además fue similar entre los grupos II y IV. Por lo tanto, el captopril no fue capaz de prevenir la antinatriuresis secundaria a la DAV. Concluimos que la antinatriuresis provocada por la DAV no está mediada por AGII.

## INTRODUCCION

Son múltiples los mecanismos descritos en la excreción y reabsorción de sodio por el riñón. Hasta 1961 se pensaba que la excreción de sodio dependía básicamente de la fracción filtrada de sodio; en ese año de Wardener et al (1) demostraron que la diuresis de sodio que sigue a la infusión salina en el perro estaba disociada de la filtración glomerular (FG) y del flujo plasmático renal (FPR); además, no dependía de la inervación renal, de la concentración de proteínas plasmáticas o de la aldosterona. Por lo tanto, el control fisiológico de la excreción de sodio se lleva a cabo con mecanismos que actúan principalmente en los túbulos renales. A partir de la publicación de de Wardener se buscan afanosamente el o los factores que determinan el balance glomérulo-tubular, y por lo tanto, la excreción renal de sal.

Los factores físicos peritubulares se estudiaron como una explicación a este fenómeno en la década de los sesenta (2-4); en forma sucinta; el sodio pasa de la luz del túbulo al interior de la célula por gradiente químico y después se transporta en forma activa (Na-K-ATPasa) a través de la membrana basolateral al espacio peritubular, en donde difunde, junto con agua, al capilar peritubular; esta difusión depende de las llamadas fuerzas de Starling. Así, al aumentar la fracción de filtración (FF), aumenta la presión oncótica y disminuye la presión hidrostática en el capilar peritubular, lo que favorece la reabsorción de sodio y agua; por el contrario, si la FF es baja, la presión oncótica en

el capilar peritubular será menor y la presión hidrostática mayor, por lo que disminuirá la reabsorción tubular de sal. Sin embargo, esta teoría no ha sido comprobada y además, existen evidencias en su contra. La disminución de la presión de perfusión renal (estenosis vascular) bloquea la natriuresis que sigue a la expansión salina, siempre y cuando la estenosis sea producida antes de la expansión (5,6). En los animales en los que se produce la estenosis de la arteria renal después de iniciada la expansión se observa natriuresis intensa con disminución de la reabsorción proximal absoluta. En cambio, en aquellos con estenosis previa a la expansión no aumenta la excreción urinaria de sodio ni disminuye la reabsorción proximal absoluta. Una posible explicación a este fenómeno es que en el caso de la estenosis tardía, durante la expansión salina se desarrolla disminución de la presión oncótica, con aumento de la hidrostática a nivel del capilar peritubular, lo que favorece la natriuresis. En cambio, en el caso de la estenosis temprana, durante la expansión salina, existen los mismos cambios en la presión oncótica, sin embargo, la presión hidrostática intracapilar disminuye (en vez de aumentar) mientras que la misma presión permanece sin cambios en el intersticio (6). El resultado es: Aumento proporcional de la presión intersticial que contrarresta a la disminución de la presión oncótica y así la reabsorción tubular proximal permanece sin cambios. Sin embargo, durante la depleción del volumen circulante, la infusión de albúmina intrarrenal no modifica la reabsorción tubular (7); de acuerdo con la teoría de los factores físicos peritubulares, la infusión intrarrenal de albúmina debería de producir natriuresis aun en presencia de depleción de volumen.



Estos experimentos cuestionan seriamente a la teoría de los factores físicos peritubulares como la única o principal explicación de la regulación de la excreción urinaria de sal y resaltan la importancia del volumen circulante y de la presión de perfusión.

Peña et al (8) demostraron que la depleción de volumen, previa a la expansión salina, es un estímulo antinatriurético potente que es capaz de bloquear la respuesta natriurética que sigue al estímulo de expansión. En este trabajo los animales sujetos a expansión posdepleción, a diferencia de los expuestos únicamente a expansión salina, tuvieron elevación mucho menor de la excreción urinaria, y de la excreción fraccional de sodio mientras que la filtración glomerular y el flujo sanguíneo renal permanecieron igual en ambos grupos. Esto indica que el estímulo antinatriurético es de origen tubular. En ese mismo trabajo (8) se repitió el experimento pero con administración intrarrenal de acetilcolina, con objeto de disminuir las resistencias intrarrenales; los perros tuvieron la misma respuesta antinatriurética postdepleción, lo que, junto con la ausencia de cambios en la filtración glomerular y en el flujo sanguíneo renal eliminó definitivamente la posibilidad de que la vasoconstricción renal influyera o fuera la causante de este fenómeno. Finalmente, en un estudio posterior, Peña et al (9) demostraron también que el fenómeno de antinatriuresis no dependía de la secreción de aldosterona. La antinatriuresis no sólo se observa después de la estenosis vascular (5,6) y de la depleción de volumen (8), sino también posterior a la administración de diuréticos (10) y en el

postoperatorio (11). En estas condiciones la antinatriuresis se evita con reposición adecuada del sodio durante el efecto del diurético (12) o en el pre y transoperatorio (11).

Hasta la actualidad el origen del fenómeno de antinatriuresis permanece sin explicación.

#### EFFECTOS RENALES DE LA ANGIOTENSINA II

La angiotensina II (AGII) es una hormona peptídica y es el efector principal del sistema renina-angiotensina. Fue descubierta por su potente acción vasoconstrictora (13). Sin embargo, con el paso del tiempo, se han descrito más acciones específicas de este péptido en diferentes partes de la economía. Así, se conocen múltiples acciones de AGII en sistema nervioso central (14,15), en corazón (16), en glándula suprarrenal (17), en músculo liso vascular y en las gónadas femeninas (18,19) en donde al parecer ejerce control sobre la ovulación. Así mismo, recientemente se encontró que AGII estimula la síntesis de proteínas en las células musculares lisas de los vasos sanguíneos (20) y la expresión del proto-oncogene c-fos (21); además, durante el desarrollo fetal, AGII parece funcionar también como un factor de crecimiento y existen receptores en el músculo estriado fetal que desaparecen durante los primeros días de la vida (22).

Los efectos renales de la AGII se han estudiado con más detalle en la última década; así se encontró que AGII actúa tanto en el glomérulo como en el túbulo proximal, e influye sobre el comportamiento hemodinámico glomerular y sobre el control del sodio y agua corporal. En esta introducción me referiré casi

exclusivamente a los efectos tisulares y celulares de angiotensina II en riñón.

#### EFFECTOS GLOMERULARES

En 1974, Myers y Brenner (23) describieron que la administración endovenosa de AGII, en ratas hidropénicas, producía vasoconstricción de la arteriola eferente y aumento de la resistencia eferente (RE). La resistencia aferente (RA) también aumentaba pero en menor proporción que la RE. Esta combinación produce un incremento significativo de la presión capilar glomerular (PCG), con disminución del FPR y el consecuente incremento en la FF; la FG se mantiene constante debido a que por un lado, el aumento en la PCG favorece la ultrafiltración glomerular y por otro, la caída del FPR tiende a reducirla.

Tiempo después, Blantz et al (24) al estudiar ratas expandidas de volumen, con objeto de evitar los efectos de AGII endógena, demostraron que, en este modelo, la administración de AGII produce disminución de la FG debido a reducción significativa en el coeficiente de ultrafiltración glomerular (Kf). Los determinantes del Kf son el área de filtración y la permeabilidad hidráulica capilar. La rápida caída en el Kf al administrar AGII es secundaria a disminución de la permeabilidad capilar glomerular. Años más tarde, Baylis y Brenner (25) estudiaron los efectos glomerulares de la AGII en ratas previamente tratadas con un inhibidor de la síntesis de prostaglandinas (PG) (indometacina). En este estudio, la ausencia de prostaglandinas

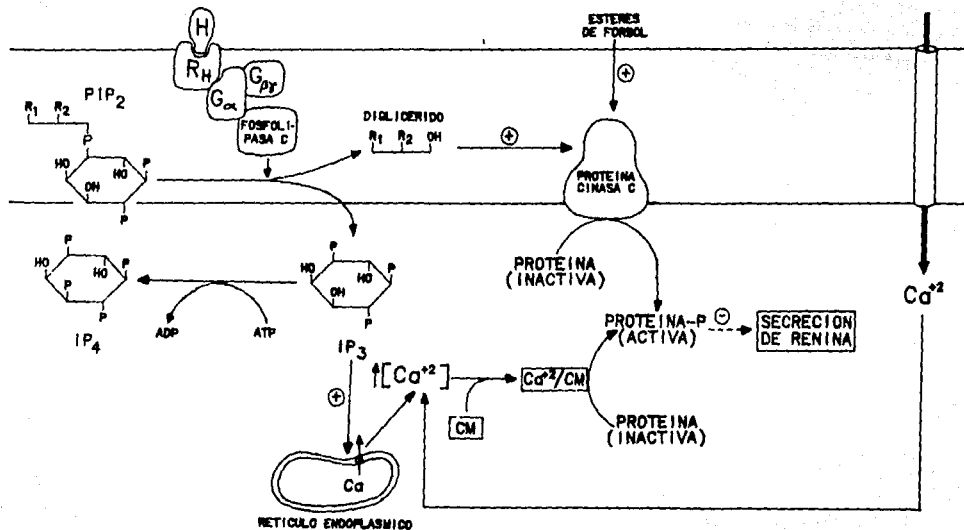
permitió que AGII tuviera un efecto vasoconstrictor más potente en los vasos preglomerulares, con lo que aumenta significativamente la RA y por lo tanto, disminuye aún más el FSR y la FG. En ese trabajo (25), se demostró además que la disminución del Kf, inducida por AGII, se mantiene intacta, a pesar de la inhibición de la síntesis de PG, lo que sugiere que se trata de un efecto directo sobre las células mesangiales. Actualmente ya se conoce (26) que AGII es capaz de producir vasoconstricción en ambas arteriolas glomerulares (aférente y eférente), pero que el efecto es proporcionalmente mayor en la arteriola eférente porque la prostaciclina producida por los vasos preglomerulares inhibe la acción de AGII en la arteriola aférente y hace predominar el efecto sobre los vasos post-glomerulares, y como consecuencia aumenta la RE y la PCG. Este efecto preferente de la prostaciclina sobre la arteriola aférente se debe a que esta prostaglandina no se produce en los vasos postglomerulares (27).

La disminución en el Kf mediada por AGII es secundaria a la reducción de la permeabilidad capilar. Debido a la similitud estructural que existe entre las células musculares lisas y las mesangiales (28), Ausiello et al (29) estudiaron el efecto in vitro de varias hormonas sobre células mesangiales mantenidas en cultivo, y demostraron que, tanto arginina-vasopresina, como AGII producen contracción celular, lo que explica la caída de la permeabilidad capilar inducida por AGII. Ichikawa et al (30) demostraron posteriormente que los efectos hemodinámicos glomerulares, así como la contracción de células mesangiales, por AGII, están mediadas por un aumento en la movilización de calcio intracelular, ya que los efectos de aumento en la RE, PCG, FF, con

disminución del  $K_f$  y del FSR fueron abolidos al agregar a la infusión de AGII un bloqueador de los canales de calcio (verapamil).

En estos últimos años se ha estudiado el mecanismo íntimo de la acción de AGII en células mesangiales y en células musculares lisas. Se ha demostrado que AGII, en estas células, aumenta el recambio y las concentraciones de inositol-trifosfato (IP<sub>3</sub>), así como la liberación de calcio de sus depósitos intracelulares (31). Este efecto es completamente bloqueado por saralasin (inhibidor competitivo de la unión de AGII a su receptor), lo que demuestra que es mediado a través de receptores de membrana para AGII. Por otro lado, se sabe también que el GTP (trifosfato de guanidina) potencia la acción de AGII sobre IP<sub>3</sub>, mientras que el pretratamiento de las células mesangiales con toxina pertussis (inhibidor de la proteína  $G_i$ ) evita la activación del IP<sub>3</sub> y por lo tanto, la liberación de calcio de sus depósitos intracelulares inducido por AGII (32). Estos resultados confirman que la acción de AGII en células mesangiales es a través de la vía de IP<sub>3</sub>, con aumento de la liberación de calcio de los reservorios intracelulares y su consecuente efecto sobre la contracción. Esta secuencia de eventos se esquematiza en la figura 1; la unión de AGII con su receptor de membrana produce activación de la proteína  $G_i$ , que a su vez activa a la fosfolipasa C para que esta enzima estimule la producción de IP<sub>3</sub> y diacil-glicerol, a partir del inositol-2,4,bifosfato (33). El IP<sub>3</sub> posteriormente se une a la membrana del retículo endoplásmico liso en donde estimula la liberación de calcio (34), mientras que el diacilglicerol activa a

FIGURA 1.-Vía del inositol trifosfato como mecanismo de respuesta a la angiotensina II en las células mesangiales.



la proteína cinasa C, enzima encargada de activar varios procesos celulares y que además sirve de retroalimentación negativa, porque inhibe la activación de la proteína Gi (35).

Las acciones glomerulares de AGII han sido relativamente bien dilucidadas y todas ellas al parecer son secundarias a contracción de células musculares lisas. Los dos efectos más importantes son la vasoconstricción de la arteriola eferente y la contracción de las células mesangiales. Estos dos efectos son responsables de prácticamente todos los cambios hemodinámicos observados durante la administración de AGII.

El efecto glomerular que más llama la atención de los investigadores es el aumento en la PCG. Las nefronas que, después de una agresión renal, permanecen con aumento en la PCG, parecen corresponder con las que posteriormente desarrollan esclerosis glomerular (36). En varios modelos experimentales de daño renal se demuestra que aquellos que cursan con aumento de la PCG son los que desarrollan con mayor frecuencia insuficiencia renal progresiva. En el estudio de la nefropatía diabética en ratas, la administración de un inhibidor de la enzima convertidora de angiotensina (IECA) (captopril) evita la progresión hacia la esclerosis glomerular y la insuficiencia renal (37,38). Este mismo efecto protector de los IECA se informó en otros modelos de nefropatía crónica como son el síndrome nefrótico por administración de aminonucleósido de puromicina (39), el daño glomerular inducido por esteroides (40), el modelo de hipertensión arterial sistémica (41) y el de nefrectomía, que incluye 5/6 de la masa renal (42). En humanos, existen evidencias en estudios piloto de que la administración de captopril es capaz de disminuir la

proteinuria y de disminuir también la velocidad del deterioro de la función renal en pacientes con nefropatía diabética (43-46). Es necesario el desarrollo de ensayos clínicos controlados que demuestren en forma más sólida la efectividad de este tipo de agentes en la evolución de la nefropatía, en pacientes con diabetes mellitus.

## EFFECTOS TUBULARES

La AGII también tiene efectos tubulares que intervienen en la regulación del sodio y agua corporales. En 1977, Johnson y Malvin (47) estudiaron el efecto de la administración de AGII en la arteria renal izquierda, sobre las constantes de función renal y sobre la reabsorción de sodio y agua. En el riñón infundido (izquierdo) disminuyó la excreción urinaria de sodio que fue proporcionalmente mayor a los cambios observados en FG, FSR o FF. Por lo tanto, se consideró que posiblemente, AGII tuviera un efecto tubular directo que afectara la reabsorción de sodio. Posteriormente, Shuster y Kokko (48), con técnicas de microperfusión de túbulo aislado demostraron que, AGII a concentraciones bajas ( $10^{-11}$  M) produce reabsorción de sodio y agua, mientras que a dosis altas ( $10^{-7}$  M) inhibe la reabsorción tubular proximal de sodio y agua. No existe explicación satisfactoria para este efecto bifásico de AGII, sin embargo, las dosis necesarias para obtener el efecto inhibitorio son farmacológicas y difíciles de alcanzar, aún en estados patológicos.



Olsen et al (49) en un elegante trabajo realizado en perros, observaron que la administración de AGII a dosis subpresoras produce aumento en la reabsorción fraccional de sodio y litio, mientras que a dosis presoras, y aun farmacológicas, produce disminución de la reabsorción proximal de sodio. Sin embargo, esta disminución en la reabsorción de sodio es secundaria a natriuresis de presión ya que cuando se mantuvo la presión de la arteria renal izquierda, en 110 mmHg, mediante un mecanismo de servo-control, que impide el aumento de la tensión en la arteria renal, aun las dosis máximas de AGII produjeron antinatriuresis. Este trabajo demuestra que, en un modelo in vivo, el efecto de AGII sobre el túbulo proximal es el de favorecer la reabsorción de sodio, y que a dosis farmacológicas, este efecto se minimiza o se revierte por la natriuresis de presión. En otros estudios (50) se demostró que la saralasin aumenta la excreción urinaria de sodio en perros previamente sujetos a depleción crónica de volumen, condición que estimula la producción sistémica de AGII, así mismo, la administración de captopril en ratas depletadas de sodio, también produce un aumento en la excreción urinaria de sal (51).

Guyton et al (52) estudiaron el efecto de la administración crónica intravenosa de captopril y de AGII, sobre la curva de natriuresis de presión, con ingesta de sodio desde 2 hasta 500 mEq/día. En la figura 2 se observa la relación entre la excreción urinaria de sodio y la presión arterial en seis perros controles, seis tratados con captopril y seis tratados con AGII. En los controles, se puede aumentar la excreción de sodio urinario desde 2 hasta 500 mEq/día con ligero aumento de tensión arterial (7

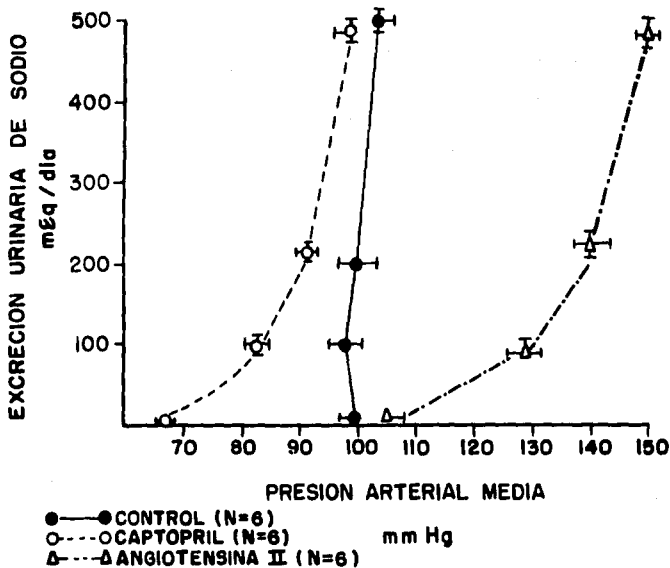


FIGURA 2.-Relación entre la excreción urinaria de sodio y la presión arterial en perros controles, perros tratados con captopril y perros tratados con angiotensina II.

mmHg). En los perros tratados con captopril, esta relación se desplaza hacia la izquierda, de tal forma que el balance entre ingesta y excreción de sodio se da a niveles inferiores de presión arterial, en especial cuando la ingesta es baja. Por el contrario, después de la infusión de dosis subpresoras de AGII (5 ng/kg/min), el balance entre ingesta y excreción de Na<sup>+</sup> se alcanza solo con presiones arteriales elevadas. Es decir, la curva se desplaza hacia la derecha. Esto sugiere que la capacidad para excretar grandes cantidades de sodio la facilita el captopril y la inhibe AGII; por lo que, para que los animales tratados con AGII excreten una carga de sodio de 500 mEq/día requieren de una ganancia mayor en la presión arterial y por lo tanto de natriuresis de presión; lo que nuevamente apoya el efecto antinatriurético de AGII in vivo.

Existen receptores para AGII en la corteza y en la porción externa de la medula renal (53-57). En la corteza renal se encuentran especialmente en el glomérulo (células mesangiales) y en las células tubulares proximales. Con métodos de microanálisis, con objeto de determinar la captación de AGII marcada con I-125 (58), se han observado receptores a lo largo de toda la nefrona, pero en mayor concentración en el túbulo proximal. Además, con este micrométodo se ha demostrado también que los receptores para AGII existen tanto en la cara basolateral como en la luminal de las células tubulares.

Recientemente se han realizado algunos estudios encaminados a determinar el mecanismo íntimo por el que AGII produce aumento en la reabsorción de sodio. Fui y Cogan (59) usaron técnica de

microperfusión de túbulo y demostraron que la adición de AGII aumenta significativamente la reabsorción de bicarbonato en la porción S1 del túbulo proximal, mientras que al agregar saralasin, este efecto se revirtió. Estos mismos resultados se obtuvieron al estudiar el segmento S2 del túbulo proximal, pero fueron mucho menos evidentes. Saccomani et al (60) y Fui et al (61) demostraron que la incorporación de  $\text{Na}^+$ , inducida por AGII, a las células del túbulo proximal se acompaña de alcalinización intracelular, con acidificación extracelular; este efecto lo bloquea la amilorida. Además, existen evidencias experimentales de que este es el mecanismo de acción de AGII en las células musculares lisas (62,63). Estos hallazgos sugieren que el mecanismo por el cual aumenta la reabsorción de  $\text{Na}^+$  proximal es a través de la activación de la proteína contra-transportadora de  $\text{Na}^+/\text{H}^+$ . Trabajos más recientes (61,64) demuestran que la acción de AGII en túbulo proximal es mediada por la activación de una proteína Gi, acompañada de activación de fosfolipasa A y disminución de AMPc, aunque aún esta pendiente el conocer el mecanismo completo de esta secuencia.

En conclusión, se han demostrado varios efectos de AGII sobre la función renal. De estos, los de mayor trascendencia son los glomerulares y los tubulares proximales. En este último sitio de la nefrona, AGII tiene efecto sobre la reabsorción de sodio y agua, a través de la activación del contra-transportador de  $\text{Na}^+/\text{H}^+$ , por lo que también regula la acidificación de la orina y por ende el metabolismo ácido base.

La activación del sistema renina angiotensina se inicia con la secreción de renina en el aparato yuxtaglomerular. La renina es

la enzima encargada de convertir el angiotensinógeno en el decapeptido angiotensina I. Este péptido posteriormente se convierte en angiotensina II, al perder los dos aminoácidos del extremo carboxilo (histidina y leucina), por acción de la enzima convertidora de angiotensina I (65,66). Por lo tanto, las condiciones que estimulen la secreción de renina aumentarán la concentración de AG II. Los principales mecanismos involucrados en la liberación de renina son (67-70):

1.-Barorreceptores renales. La secreción de renina es inversamente proporcional a la presión de perfusión renal.

2.-La mácula densa. La secreción de renina es inversamente proporcional a la cantidad de sodio que pasa por esta parte especializada del túbulo distal.

3.-Sistema nervioso autónomo. Las catecolaminas estimulan la secreción de renina via receptores B<sub>2</sub>.

4.-Agentes hormonales. Vasopresina y prostaciclina.

La depleción aguda de volumen puede activar los mecanismos anteriores: Reduce la presión de perfusión renal; disminuye la cantidad de sodio que pasa por la mácula densa y activa al sistema nervioso simpático. Por lo tanto, es un estímulo potencial para la secreción de renina.

Es posible que al reducirse el volumen circulante en forma aguda se active el sistema renina angiotensina, sistémico e intrarrenal. La AG II producida puede ser la responsable de la antinatriuresis que sigue a la depleción de volumen gracias a su acción antinatriurética en el túbulo proximal.

La excreción de sodio está determinada por el balance que

existe entre estímulos natriuréticos y antinatriuréticos. Se ha investigado ampliamente la función renal en modelos experimentales inductores de natriuresis, pero es poca la información que se tiene a través de modelos de antinatriuresis. Este último parece más adecuado, dado que la función principal de los túbulos renales es la reabsorción. De hecho, es posible que la explicación a la retención de volumen de ciertos estados patológicos, en especial la insuficiencia cardíaca, la hipertensión arterial primaria y la cirrosis hepática con ascitis, sea la excesiva actividad de mecanismos antinatriuréticos y no un defecto en la liberación de factores natriuréticos. Estos mecanismos deben estudiarse primero en modelos experimentales más simples, para después ser utilizados en el estudio de estados patológicos.

## HIPOTESIS

Por su acción tubular, la angiotensina II es la responsable de la antinatriuresis que sigue a la depleción aguda de volumen.

## OBJETIVOS

1.-Caracterizar el comportamiento del sistema renina angiotensina aldosterona durante el fenómeno de antinatriuresis posdepleción en el perro.

2.-Determinar el comportamiento de la antinatriuresis posdepleción en perros con bloqueo del sistema renina angiotensina, con un inhibidor de la enzima convertidora de angiotensina I (captopril).

3.-Caracterizar el comportamiento del sistema renina angiotensina aldosterona durante el fenómeno de antinatriuresis en perros tratados previamente con captopril.

## MATERIAL Y METODOS

### A) DISEÑO EXPERIMENTAL

Se realizaron un total de 24 experimentos en el mismo número de perros mestizos de ambos sexos, divididos en cuatro grupos de seis perros cada uno. Todos los perros fueron anestesiados con pentobarbital sódico a dosis inicial de 25 mg/kg y posteriormente con la mínima dosis posible de mantenimiento. Con catetres de polietileno se canalizaron: Una vena yugular, ambas venas femorales, ambos ureteros y la arteria femoral derecha. La vena femoral derecha se canalizó con un cateter de polietileno acodado en la punta que se llevó hasta la vena renal derecha. En el caso de ambos ureteros los cateteres se avanzaron hasta la pelvis renal. En todos los casos, el riñón estudiado fue el derecho. Se mantuvo asistencia ventilatoria durante todo el experimento mediante un ventilador Harvard.

Desde el inicio de la cirugía se colocó, por la vena yugular derecha, una infusión continua de solución salina al 0.9% con 10.5 g de inulina y 1.8 g de para-aminohipurato, a velocidad de 2 ml/min. Al terminar la cirugía se registraron tres periodos control de 10 minutos cada uno. En cada periodo se obtuvo orina durante 10 minutos y muestras de sangre provenientes de la arteria femoral y de la vena renal derecha. Así mismo, a la mitad de cada periodo se registró la tensión arterial media con un manómetro de mercurio (conectado al cateter de la arteria femoral) y al final se determinó el volumen urinario.



A todos los perros se les expandió de la misma forma: Solución salina al 0.9% a razón de 2 ml/kg/min durante 20 minutos y después 1 ml/kg/min durante 40 minutos mas. Durante la expansión salina se registraron seis periodos mas en forma similar al control.

Los experimentos realizados fueron los siguientes:

Grupo I.- Expansión salina (seis perros): Al término del periodo control se dejó una hora de reposo y posteriormente los animales fueron expandidos en la forma descrita previamente.

Grupo II.-Expansión salina posdepleción (seis perros): Al término del periodo control los animales fueron sangrados a razón de 20 ml de sangre/kg extraída en periodo de cinco minutos. Posteriormente permanecieron en una hora de reposo, al término de la cual se realizó la expansión salina como fue descrito previamente.

Grupo III.-Expansión salina + captopril (seis perros): Este grupo recibió captopril de la siguiente manera: 400 mg por vía oral la noche anterior al experimento. Al día siguiente, al terminar la cirugía, se administró 1 mg/kg en bolo intravenoso, seguido de una infusión continua de 20 ug/kg/min hasta terminar el experimento. Después de completado el periodo control y el de reposo se realizó la expansión salina en forma similar a la descrita.

Grupo IV.- Expansión posdepleción + captopril (seis perros): Este grupo recibió la misma dosis de captopril que la descrita para el grupo anterior y fue depletado y expandido de volumen en forma idéntica al grupo II.

-----  
\*El captopril utilizado en este trabajo fue amablemente donado por el Dr. Jorge Ramírez Peredo de E.R. Squibb and Sons de México.

## B) METODOS ANALITICOS

En todas las muestras de orina recolectadas (tres periodos control y seis expansión) se determinó: Volumen urinario en ml/min, sodio y potasio con fotómetro de flama (Instrumentation Laboratory 443), inulina mediante técnica de Davidson y Sackner (71) y para-aminohipurato mediante técnica de Smith y Finklestien (72). Estas dos técnicas son colorimétricas y en ambos casos el espectrofotómetro utilizado fue de la casa Bausch and Lomb.

En las muestras de sangre arterial recolectadas se determinó: Sodio, potasio, inulina y para-aminohipurato con las técnicas antes descritas y hematocrito con la técnica de Wintrobe (73). En las muestras provenientes de la sangre venosa renal se determinó únicamente para-aminohipurato. Los resultados del análisis de control de calidad de estas determinaciones durante la realización del protocolo fueron las siguientes:

### Electrolitos urinarios

### Electrolitos séricos

#### Variación intraanálisis:

Sodio:	4.4% (IC95% 3.1 a 5.7)	2.4% (IC95% 1.6 a 3.2)
Potasio:	5.1% (IC95% 3.8 a 6.4)	2.9% (IC95% 2.1 a 3.7)

#### Variación interanálisis:

Sodio:	4.3% (IC95% 2.3 a 6.3)	2.1% (IC95% 1.5 a 2.6)
Potasio:	3.8% (IC95% 1.9 a 5.7)	3.1% (IC95% 1.6 a 4.7)

Para la determinación de inulina el análisis de control de calidad está basado en 14 de los análisis que se llevaron a cabo durante el protocolo. En el caso del para-aminohipurato este análisis esta basado en 20 ensayos, que fueron casi el total de

los llevados a cabo durante la realización del protocolo. Los resultados de las curvas patrón utilizadas durante el experimento se expresan en las tablas 1 Y 2.

Se recolectaron también muestras de sangre arterial y de la vena renal a la mitad del período control y al inicio, mitad y final de la expansión para la determinación de actividad plasmática de renina y de aldosterona. Estas muestras se recolectaron en tubos de ensayo a 4 grados C y en los que previamente se colocaron 100 ul de Acido etil-N-diaminotetracético (EDTA), 50 ul de 8-OH-quinolina y 50 ul de dimercaprol, con objeto de evitar la degradación de los componentes del sistema renina angiotensina. Estas muestras fueron mantenidas a  $-20^{\circ}$  C hasta su procesamiento.

TABLA 1

INULINA

COEFICIENTE DE VARIACION (%) (N=14)

mg/ml	INTERANALISIS	INTRANALISIS
0.01	8.4	4.9
0.02	4.8	1.7
0.03	3.4	2.0
0.04	1.9	2.1
0.05	1.5	1.7

TABLA 2  
 PARA-AMINOHIPURATO

COEFICIENTE DE VARIACION (%) (N=20)

ug/ml	INTERANALISIS	INTRANALISIS
1.0	1.67	1.0
2.0	2.30	0.6
3.0	1.29	0.3
4.0	1.56	0.5
5.0	1.66	0.3

La actividad plasmática de renina se realizó con radioinmunoanálisis con anticuerpos contra angiotensina I generados en el propio laboratorio de Nefrología y Metabolismo Mineral (74). Estos anticuerpos están dirigidos contra la molécula de angiotensina I y por lo tanto el resultado se expresa como la generación de angiotensina I en ng/ml/h y es la medición que se conoce como actividad plasmática de renina (75). Estos anticuerpos tienen una especificidad del 100% contra angiotensina I ya que su reacción cruzada contra otras moléculas similares (angiotensina II y III ó angiotensinógeno) es menor al 0.05% (74). La variación intra e interanálisis a diferentes concentraciones se observa en las tablas 3 y 4.

La determinación de aldosterona se llevó a cabo mediante

radioinmunoanálisis con estuche comercial de la casa International-CIS (Francia). El resultado se expresa como pg/ml. Los coeficientes de variación inter e intra análisis para diferentes concentraciones se observan en la tabla 5.

TABLA 3

VARIACION INTRANALISIS EN EL RIA DE ANGIOTENSINA I

ESTANDAR	MEDIA	D. E.	C. V. (%)
ALTA	6.50	0.25	3.8
MEDIA	3.75	0.19	5.1
BAJA	0.38	0.03	7.9

TABLA 4

VARIACION INTERANALISIS EN EL RIA DE ANGIOTENSINA I

ESTANDAR	MEDIA	D. E.	C. V. (%)
ALTO	3.30	0.35	10.70
MEDIO	0.69	0.07	11.26
BAJO	0.12	0.02	16.96

TABLA 5  
CONTROL DE CALIDAD EN RIA PARA ALDOSTERONA

CONCENTRACION DE ALDOSTERONA (pg/ml)	COEFICIENTE DE VARIACION (%) INTRANALISIS	COEFICIENTE DE VARIACION (%) INTERANALISIS
73	11.2	17.7
208.3		10.4
308	8.2	
454		6.6

C) CALCULOS

La determinación de inulina fue utilizada para estimar la filtración glomerular y el para-aminohipurato para estimar el flujo plasmático y el flujo sanguíneo renal. Las fórmulas utilizadas fueron las siguientes:

$$\text{Filtración glomerular} = \text{DIn} = \frac{\text{InU} \times \text{VU}}{\text{InP}}$$

DIn= Depuración de Inulina (ml/min).

InU= Inulina urinaria (mg/ml).

VU= Volumen urinario (ml/min).

InP= Inulina plasmática (mg/ml).

$$\text{Flujo plasmático renal efectivo} = \text{DPAH} = \frac{\text{PAHU} \times \text{VU}}{\text{PAHP}}$$

DPAH= Depuración de para-aminohipurato (ml/min).

PAHU= Para-aminohipurato urinario (ug/ml).

VU= Volumen urinario (ml/min).

PAHP= Para-aminohipurato plasmático (ug/ml).

$$\text{Flujo sanguíneo renal efectivo} = (DPAH / (hto \times 0.01))$$

DPAH= Depuración de para-aminohipurato (ml/min).

hto= Hematocrito.

$$\text{Flujo plasmático renal total} = \frac{PAHU \times VU}{PAHa - PAHv}$$

PAHU= Para-aminohipurato urinario (ug/ml).

VU= Volumen urinario (ml/min).

PAHa= Para-aminohipurato arterial (ug/ml).

PAHv= Para-aminohipurato venoso renal (ug/ml).

$$\text{Flujo sanguíneo renal total} = (FPRT / (hto \times 0.01)).$$

$$\text{Resistencias renales} = TA / FSRT$$

$$\text{Fracción de filtración} = FF = FG / FPRE \times 100$$

$$\text{Excreción urinaria de sodio} = V.U.Na = uEq/min$$

$$\text{Excreción fraccional de sodio} = FENa = DNa / DIn$$

DNa= Depuración de sodio.

DIn= Depuración de inulina.

#### D) INMUNOPEROXIDASA CONTRA AGII EN RINON

Con objeto de estimar la presencia de AG II en el riñón se

estudiaron cuatro perros mas; dos del grupo II (expansión posdepleción) y dos del grupo IV (expansión posdepleción + captopril). Estos cuatro perros fueron idénticos a los de sus grupos correspondientes, hasta el momento anterior a iniciar la expansión salina. En estos animales, después de la hora de reposo posdepleción se obtuvo tejido renal y fueron sacrificados.

El tejido renal fue colectado en solución de formol amortiguado 0.1 M a pH de 6.5 y posteriormente procesado con técnica de inclusión en parafina. La tinción utilizada fue la de inmunoperoxidasa en contra de AG II.

Los anticuerpos utilizados en esta tinción fueron producidos en el Laboratorio de Nefrología y Metabolismo Mineral del Instituto, son policlonales, pero tienen alta especificidad para AG II, ya que la reacción cruzada con angiotensina III fue de 8% y con angiotensinógeno y angiotensina I fue menor al 0.05% (76). La unión de los anticuerpos a la peroxidasa y la realización de las tinciones fueron llevadas a cabo según las técnicas de Sternberg (77), Mukai y Rosai (78) y Madji et al (79)\*.

#### E)ANALISIS ESTADISTICO

La concentración de los datos y el análisis estadístico se llevaron a cabo en una microcomputadora Vectra AT de Hewlett Packard. El programa estadístico utilizado fue el de STAT-Pak NWA (80). Se utilizó análisis de varianza de una vía para comparar el peso de los perros entre los cuatro grupos (81). El análisis de

-----  
\*Esta parte del trabajo se llevó a cabo en el laboratorio de inmunopatología, del Departamento de Patología, bajo la dirección del Dr. Rogelio Hernández Pando.



varianza de tres vías, de muestras repetidas para varios grupos (Split-Plot) se utilizó con objeto de comparar los cambios observados durante la expansión salina en: Tensión arterial media (TAM), filtración glomerular, flujo sanguíneo renal, excreción urinaria de sodio, fracción excretada de sodio, volumen urinario, sodio sérico, potasio sérico y hematocrito entre los cuatro grupos (81-83). Posteriormente, para hacer comparaciones entre dos grupos (vgr.-I vs II) se utilizó análisis de varianza de dos vías de muestras repetidas. Como el resultado es el mismo, los resultados del trabajo se expresan en grupos de 2 en 2; es decir, primero los grupos I vs II, después III vs IV, seguidos de I vs III y II vs IV. Para esta descripción se utilizaron los resultados del análisis de varianza de dos vías. En los apéndices A-H se podrán consultar los resultados obtenidos con el análisis de tres vías. Finalmente, con objeto de corroborar los resultados obtenidos con el ANOVA en la excreción urinaria de sodio, en la fracción excretada de sodio, en el volumen urinario y en el hematocrito se realizó regresión lineal y posteriormente se compararon las pendientes de los cuatro grupos con ANOVA de una sola vía (84). En todos los casos en que la prueba de Barlett fue positiva (es decir, que no existiera homogeneidad de varianzas) se realizó transformación logarítmica de los datos. Finalmente, todas las comparaciones múltiples realizadas fueron ajustadas según el método de Bonferroni (82,83). Todos los datos se expresan como media  $\pm$  error estándar. En los análisis de varianza referidos en el texto el numerador es de 8 y el denominador de 80. El número de sujetos por grupo es seis a menos que se aclare lo contrario. Toda  $p < 0.05$  bimarjinal se consideró estadísticamente significativa.

## RESULTADOS

### Respuesta renal a la expansión salina en los grupos I (expansión) y II (expansión posdepleción).

Como se observa en las figuras 3 y 4, en ambos grupos la expansión salina aumentó la excreción urinaria de sodio y el volumen urinario. Sin embargo, el aumento observado en el grupo sometido únicamente a expansión salina fue mayor que en el grupo de expansión posdepleción. En el grupo I, al iniciar la expansión salina, se observó un aumento rápido en la excreción urinaria de sodio que fue progresivo hasta terminar el experimento, en que alcanzó los  $432 \pm 67$  uEq/min; por el contrario, en el grupo II, la excreción urinaria de sodio aumentó lentamente y llegó a nivel máximo de  $174 \pm 56.3$  uEq/min. Esta diferencia resultó estadísticamente significativa ( $F 8.7, p < 0.01$ ). Por cada minuto de expansión, la pendiente de aumento para el primer grupo fue de  $6.63 \pm 1.2$  uEq, mientras que para el grupo II fue de  $2.6 \pm 1.0$  uEq ( $t=2.43, p < 0.05$ ). El aumento en el volumen urinario también fue mayor en el grupo I (expansión) que en el grupo II (expansión posdepleción), con pendientes de  $0.052 \pm 0.005$  y  $0.033 \pm 0.007$  ml por cada minuto de expansión, respectivamente ( $F 2.55, p < 0.005$ ).

La filtración glomerular se mantuvo constante durante todo el experimento, aunque hubo un ligero aumento al inicio y al final de la expansión salina en el grupo I. Este no fue el comportamiento de todo el grupo sino de únicamente dos perros en que la filtración glomerular fue mayor desde el inicio del experimento.

Por lo tanto, estas diferencias no alcanzaron significancia estadística (F 1.26, p= NS).

La diferencia en la excreción urinaria de sodio entre ambos grupos fue secundario a mayor reabsorción tubular de este ion en el grupo II. Durante la expansión salina la fracción filtrada de sodio fue similar en ambos grupos (tabla 6 y 7); en cambio, en el grupo I la fracción excretada de sodio aumentó de  $0.7 \pm 0.22$  a  $6.73 \pm 1.04$ , mientras que en el grupo II únicamente fue de  $0.7 \pm 0.20$  a  $3.77 \pm 1.0$  (tabla 6 y 7). Esta diferencia resultó estadísticamente significativa (F 7.06,  $p < 0.001$ ).

El flujo sanguíneo renal total tuvo un comportamiento similar en ambos grupos (tabla 6 y 7, figura 3). Al principio de la expansión aumentó ligeramente; después regresó a niveles basales. No se observaron diferencias significativas entre ambos grupos (F 1.04, p= NS).

La tensión arterial media se mantuvo constante durante todo el experimento (tabla 6 y 7, figura 4). De hecho, durante la expansión salina, el grupo II tuvo la tensión arterial inclusive por arriba de la del grupo I. Esta diferencia no fue significativa (F 1.2, p=NS).

El hematocrito disminuyó significativamente en ambos grupos (F 128,  $p < 0.00001$ ). Sin embargo, como se observa en la figura 4, a pesar de que ambos grupos recibieron el mismo grado de expansión y a la misma velocidad, el grupo II tuvo una disminución significativamente mayor que el grupo I (F 5.15,  $p < 0.01$ ). La pendiente de disminución en el hematocrito, por cada minuto de

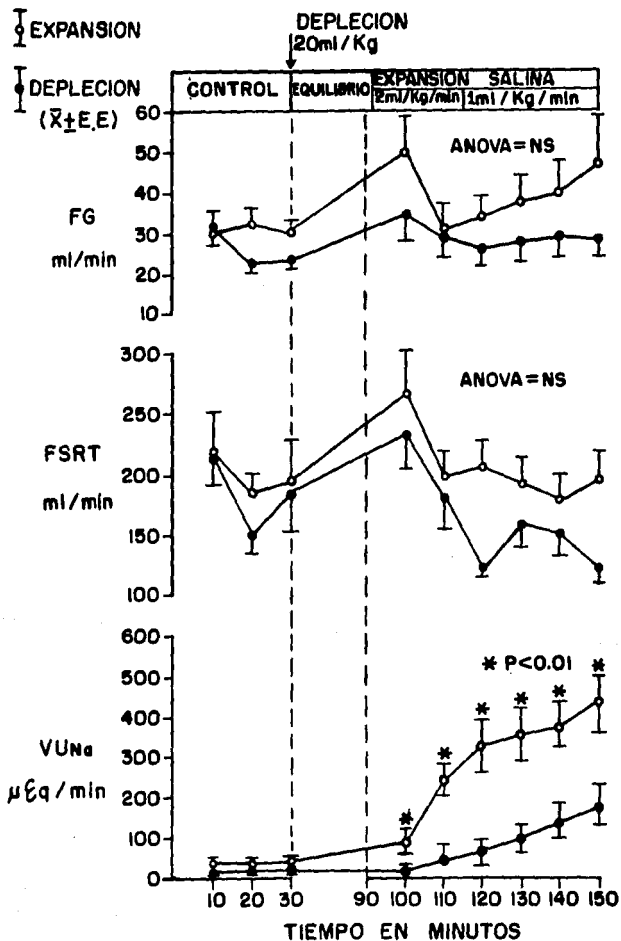


FIGURA 3.- Filtración glomerular (FG), Flujo sanguíneo renal total (FSRT) y Excreción urinaria de sodio (VUNa) en los grupos de expansión (I) y depleción (II).

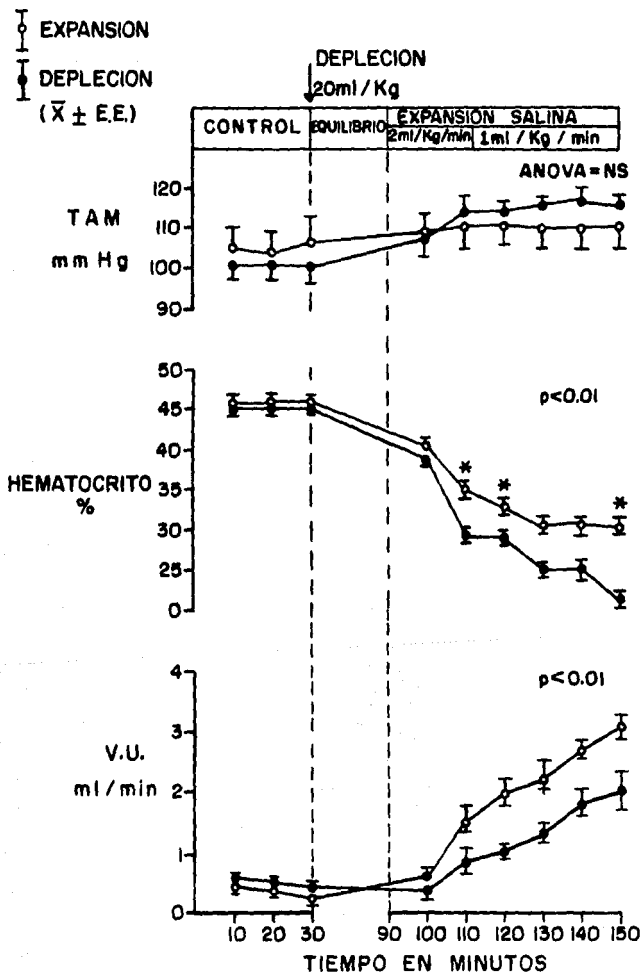


FIGURA 4.- Tensión arterial media (TAM), hematocrito y volumen urinario (VU) en los grupos de expansión (I) y depleción (II).

expansión, fue de  $-0.24 \pm 0.02$  para el grupo I y  $-0.35 \pm 0.02$  para el grupo II ( $t=2.92$ ,  $p<0.01$ ).

El sodio y potasio séricos en ambos grupos se comportaron en forma similar durante todo el experimento (datos no mostrados).

Respuesta renal a la expansión salina en los grupos que recibieron captopril: Grupo III (expansión salina + captopril) y Grupo IV (expansión posdepleción + captopril).

El comportamiento de estos grupos fue similar al de los grupos I y II. La excreción urinaria de sodio (Figura 5) y el volumen urinario (Figura 6) aumentaron en ambos grupos. Sin embargo, como sucedió con los grupos I y II, el aumento en la excreción urinaria de sodio del grupo III (expansión salina + captopril) fue mayor que la del grupo IV (expansión posdepleción + captopril). Al iniciar la expansión salina, el grupo III tuvo un aumento rápido en la excreción urinaria de sodio, que se mantuvo constante hasta el final del experimento, en que disminuyó. En este grupo, el aumento fue de  $21.1 \pm 4.4$  uEq/min (basal) a  $289 \pm 86.1$  uEq/min (140 minutos del experimento) (figura 5). En cambio, en el grupo IV, la excreción urinaria de sodio tuvo un ascenso lento y solo fue de  $32.4 \pm 8.98$  uEq/min (basal) a  $119 \pm 18.9$  uEq/min. Esta diferencia (entre grupos III y IV) resultó estadísticamente significativa ( $F 3.3$ ,  $p<0.01$ ). De hecho, por cada minuto de expansión salina, la pendiente de aumento para el grupo III fue de  $5.85 \pm 1.9$  uEqNa, mientras que para el grupo IV fue de  $1.46 \pm 0.36$  uEqNa ( $t=2.96$ ,  $p<0.05$ ). De la misma forma, el volumen

urinario aumentó significativamente mas en el grupo III que en el IV (F 2.55,  $p < 0.05$ ). En este caso, el grupo de expansión salina + captopril (III) tuvo un incremento rápido del volumen urinario que llegó a  $4.46 \pm 0.71$  ml/min a los 50 minutos de iniciada la expansión. En cambio, el grupo IV únicamente alcanzó  $2.41 \pm 0.68$  ml/min, al finalizar la expansión.

La filtración glomerular basal fue similar en ambos grupos. Posteriormente, con la expansión salina aumentó en los dos grupos y se mantuvo así durante el resto del experimento. Estos cambios fueron significativos en relación con la basal (F 3,  $p < 0.01$ ), pero no fueron diferentes entre ambos grupos (F 0.81,  $p = NS$ ).

En estos grupos, como sucedió con el I y II, la diferencia en la excreción urinaria de sodio fue debida, al parecer a mayor reabsorción tubular de este en el grupo IV. Como se observa en las tablas 8 y 9, la fracción filtrada de sodio en ambos grupos fue similar, en cambio, la fracción excretada de sodio en el grupo III aumentó de  $0.76 \pm 0.24$  a  $5.63 \pm 2.23$ , mientras que en el grupo IV únicamente fue de  $0.91 \pm 0.19$  a  $4.15 \pm 0.71$ . Esta diferencia aunque fue significativa en relación con la basal (F 11.5,  $p < 0.001$ ), no alcanzó significancia entre ambos grupos (F 1.06,  $p = NS$ ) probablemente por la dispersión tan amplia en el grupo III.

El flujo sanguíneo renal total tuvo tendencia a aumentar en el grupo III hacia el final de la expansión salina; sin embargo, esta diferencia no alcanzó significancia estadística (F 1.35,  $p = NS$ ). Es importante hacer notar que en estos grupos, al iniciarse la expansión salina, el flujo sanguíneo renal aumentó hasta casi 600 ml/min, lo que representa el doble de lo observado en los grupos I y II. De hecho, como puede observarse en las tablas 6 a

EXPANSION  
+CAPTOPRIL

DEPLECION  
+CAPTOPRIL

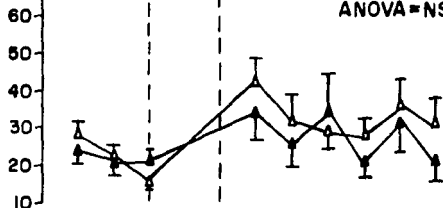
DEPLECION 20 ml / Kg

INFUSION DE CAPTOPRIL			
CONTROL	EQUILIBRIO	EXPANSION SALINA	
		2 ml/Kg/min	1 ml/Kg/min

( $\bar{X} \pm EE$ )

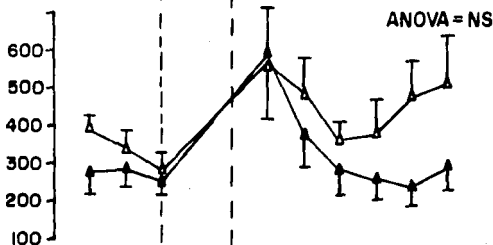
ANOVA = NS

FG  
ml/min



FSRT  
ml/min

ANOVA = NS



VUNa  
 $\mu\text{Eq}/\text{min}$

\* $p < 0.01$

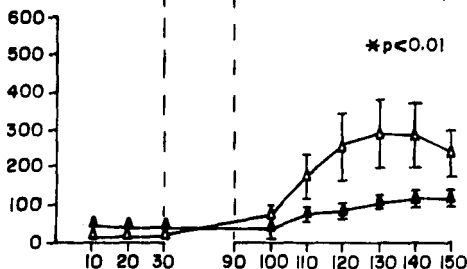


FIGURA 5.-Filtración glomerular (FG), flujo sanguíneo renal total (FSRT) y excreción urinaria de sodio (VUNa) en los grupos de expansión + captopril y depleción + captopril (III y IV).



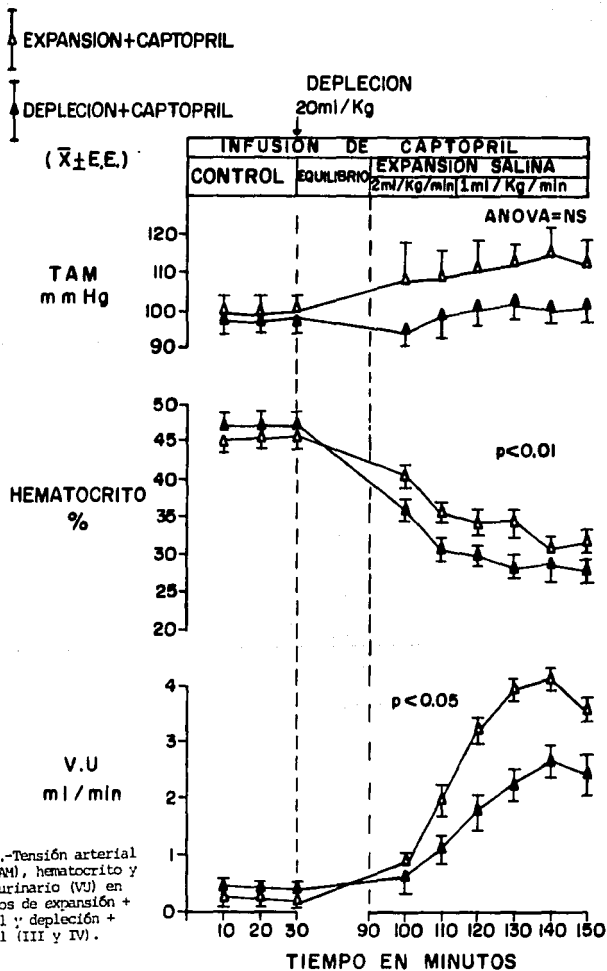


FIGURA 6.-Tensión arterial media (TAM), hematocrito y volumen urinario (VU) en los grupos de expansión + captopril y depleción + captopril (III y IV).

9, las resistencias renales (TA/FSRT) fueron mucho menores en los grupos con captopril, a pesar de que la tensión arterial de estos fue ligeramente menor. Este hallazgo representa disminución de la resistencia eferente, secundaria al tratamiento con captopril (23).

La tensión arterial media tuvo un curso similar en ambos grupos. En el grupo IV, después de la depleción de volumen, la TA disminuyó a  $95 \pm 4.2$  mmHg, mientras que en el grupo III aumentó a  $108 \pm 9.3$  mmHg. Sin embargo, durante la expansión salina la TAM aumentó en ambos grupos y se mantuvo por arriba de 100 mmHg. Además, estas diferencias no alcanzaron significancia estadística (F 1.88, p=NS).

En ambos grupos, el hematocrito disminuyó significativamente, durante la expansión salina, en relación con la basal (F 112,  $p < 0.0001$ ). Esta caída fue similar a la observada en los grupos I y II; a pesar de que ambos grupos recibieron la misma magnitud de expansión salina y a la misma velocidad, el grupo sometido a depleción (IV) tuvo un descenso significativamente mayor que el grupo III (F 6.2,  $p < 0.01$ ). En el grupo III la pendiente de disminución del hematocrito, por cada minuto de expansión fue de  $-0.28 \pm 0.02$ , mientras que para el grupo IV fue de  $-0.22 \pm 0.02$  ( $t=2.59$ ,  $p < 0.05$ ).

El sodio y potasio séricos se comportaron en forma similar en ambos grupos (datos no mostrados).

Respuesta renal a la expansión salina en los grupos sometidos únicamente a expansión salina: Grupo I (expansión salina) y Grupo III (expansión salina + captopril).

Como se observa en las figuras 3 y 5, durante la expansión salina ambos grupos tuvieron un aumento significativo de la excreción urinaria de sodio, en relación con la basal (F 26.2,  $p < 0.0001$ ). El aumento en el grupo I fue mayor y más rápido que el observado en el grupo III. Sin embargo, por cada minuto de expansión salina, la pendiente de aumento en la excreción urinaria de sodio en el grupo I fue de  $6.63 \pm 1.2$  uEq, y en el grupo III fue de  $5.85 \pm 1.9$  uEq. Esta diferencia no alcanzó significancia estadística (F 1.08,  $p = \text{NS}$ ). En cuanto al volumen urinario, el aumento fue mayor en el grupo III que en el I. En el primero llegó a  $4.46 \pm 0.71$  ml/min y en el segundo a  $3.0 \pm 0.38$  ml/min. Esta diferencia mostró ser estadísticamente significativa (F 2.35,  $p < 0.05$ ). El sodio plasmático, la fracción filtrada de sodio y la fracción excretada de sodio fueron similares en ambos grupos.

La filtración glomerular, el hematocrito y la presión arterial media se comportaron en forma similar en ambos grupos. El flujo sanguíneo renal tuvo un incremento mucho mayor en el grupo III al iniciarse la expansión salina. En este grupo, el flujo llegó a ser de  $565 \pm 133$  ml/min, mientras que en el grupo I fue de  $269 \pm 47.7$  ml/min en el mismo periodo. Esta diferencia resultó ser estadísticamente significativa ( $t = 2.77$ ,  $p < 0.05$ ).

Respuesta renal a la expansión salina en los grupos sometidos a depleción de volumen: Grupo II (expansión posdepleción) y Grupo IV (expansión posdepleción + captopril).

El curso de la excreción urinaria de sodio fue muy similar

entre ambos grupos. En los dos, el aumento fue lento. En el grupo IV fue inclusive menor que en el II, ya que el primero llegó a  $119 \pm 18.7$  uEq/min mientras que el segundo alcanzó  $174 \pm 56.3$  uEq/min. Sin embargo, esta diferencia no alcanzó significancia estadística (F 1.3, p=NS). De hecho, las pendientes fueron muy similares; por cada minuto de expansión salina el grupo II aumentó  $2.6 \pm 1.04$  uEq y el grupo IV  $1.46 \pm 0.36$ .

En los grupos de depleción de volumen el aumento observado en el volumen urinario fue similar, independientemente del tratamiento con captopril en uno de ellos. El grupo II aumentó hasta  $2.16 \pm 0.46$  ml/min (tabla 7), y el grupo IV hasta  $2.41 \pm 0.68$  ml/min (tabla 9). Esta diferencia no fue significativa (F 0.88, p=NS).

La TAM disminuyó significativamente más durante el periodo de posdepleción en el grupo tratado con captopril (IV) que en el no tratado con esta droga (II). Al momento de iniciar la expansión salina, el grupo IV tuvo TAM de  $95 \pm 4.2$  mmHg, mientras que en el mismo periodo el grupo II tuvo  $109 \pm 4.44$  mmHg. Posteriormente, en ambos grupos aumentó la TAM durante la expansión; sin embargo, aunque por arriba de los 100 mmHg, el grupo IV siempre se mantuvo entre 8 y 10 mmHg por debajo del grupo II. Este comportamiento mostró ser estadísticamente significativo (F 2.55, p<0.05).

La FG, el hematocrito y la fracción excretada de sodio tuvieron un comportamiento similar en ambos grupos durante todo el experimento.

El comportamiento del flujo sanguíneo renal fue similar entre ambos grupos. Sin embargo, al igual que en los grupos I y III, al

T A B L A 6

GRUPO I  
EXPANSION  
SALINA

Tiempo	V.U. ml/min	F.G. ml/min	FSRT ml/min	Na Sérico mEq/L	FNa μEq/min	V.U. Mn μEq/min	F.E.Na %	Hemato- crito %	TA mmHg	TA/FSRT mmHg ml/min	EPAH %
0-10	0.42±0.12	30.5±2.88	220.8±34.5	148.3±0.58	3955±152	34.5±13.8	0.70±0.26	46.7±1.22	105.1±5.75	0.57±0.10	56.9±5.83
10-20	0.39±0.11	33.1±3.45	183.3±22.7	150.6±1.20	4272±241	35.5±11.7	0.69±0.21	47.1±1.34	104.6±5.46	0.67±0.11	63.7±5.19
20-30	0.23±0.06	30.7±3.14	195.0±28.6	149.6±1.08	4009±194	35.8±11.0	0.77±0.22	47.5±1.59	107.0±5.63	0.68±0.12	63.0±4.77

## EXPANSION SALINA

90-100	0.56±0.13	50.6±9.67	269.0±48.0	150.1±1.27	7613±1580	90.3±15.3	1.45±0.30	41.1±1.51	109.3±6.40	0.54±0.13	59.4±4.96
100-110	1.55±0.34	31.8±4.08	199.7±34.0	152.3±2.17	4848±060	245 ±37.5	5.37±0.73	35.5±1.12	111.8±6.0	0.72±0.16	59.4±6.50
110-120	2.06±0.37	34.8±5.83	204.7±27.5	152.0±1.69	5319±1021	315.7±45.7	6.28±0.95	34.2±1.18	111.5±5.43	0.65±0.12	60.0±5.09
120-130	2.27±0.38	37.2±7.02	196.8±31.4	158.8±2.42	10032±1147	337.3±53.8	6.34±1.18	32.8±1.37	109.8±5.10	0.68±0.14	59.6±5.22
130-140	2.59±0.40	40.0±8.12	179 ±25.8	152.8±2.23	6097±1333	378.6±57.7	6.69±0.95	32.3±1.15	110.1±5.47	0.71±0.12	60.9±4.36
140-150	3.07±0.38	47.7±11.2	195.8±20.0	151.6±1.66	7241±1863	432 ±67.4	6.73±1.04	31.1±0.93	110.8±5.59	0.61±0.08	55.2±5.76

Peso: 18.8±1.40 Kg

Porcentaje de expansión del volumen corporal = 8

## GRUPO II

## T A B L A 7

EXPANSION  
POSDEPLECION

TIEMPO (min)	V.U. ml/min	F.G. ml/min	FSRT ml/min	Na Sérico μEq/min	F Na μEq/min	V.U.Na μEq/min	F.F.Na %	Hemato- crito %	TA mmHg	TA/FSRT mmHg ml/min	EPAH %
0-10	0.48±0.08	32.8±2.5	224.1±39.7	143.3±0.98	4660±371	37.7±8.77	0.83±0.26	47.5±1.67	103.8±5.02	0.57±0.12	58.8±4.52
10-20	0.38±0.06	22.5±3.4	154.7±22.9	144.4±0.83	3260±554	28.0±7.26	0.95±0.20	46.9±1.63	103.3±4.49	0.68±0.11	62.0±3.54
20-30	0.35±0.06	24.1±3.2	190.5±34.0	145.5±0.87	3509±517	25.4±5.76	0.77±0.20	47.3±1.91	102.6±4.69	0.60±0.11	57.1±5.06

DEPLECION DE  
VOLUMEN

## EXPANSION SALINA

90-100	0.36±0.04	34.4±7.6	234.4±31.4	147.2±0.77	4601±1191	19.3±5.9	0.56±0.20	38.0±2.16	109.5±4.44	0.55±0.13	57.6±6.39
100-110	0.74±0.13	27.0±4.5	182.1±42.8	148.2±1.04	3988±725	47.2±11.3	1.52±0.44	29.3±1.22	114.3±3.79	0.89±0.21	60.9±3.40
110-120	1.10±0.19	26.4±4.7	119.8±19.6	148.7±0.99	3921±756	63.9±12.9	2.00±0.65	28.1±1.00	114.5±3.06	1.19±0.24	66.1±4.62
120-130	1.42±0.23	27.8±4.3	164.0±31.5	148.9±1.00	4145±695	97.0±26	2.63±0.89	25.8±2.08	116.5±2.20	0.85±0.14	61.2±2.60
130-140	1.82±0.36	29.0±4.4	148.8±31.8	149.2±1.17	4350±739	144.4±47.9	3.21±0.85	26.2±1.95	118.3±2.61	1.06±0.29	56.3±6.19
140-150	2.16±0.46	24.7±4.4	98.4±19.8	149.4±1.29	4498±733	174.4±56.5	3.77±0.98	22.9±1.42	115.8±3.38	1.36±0.29	61.0±3.37

Peso: 21.3±1.35 Kg

Porcentaje de expansión del volumen corporal 8%

T    A    B    L    A    B    

GRUPO III

EXPANSION  
SALINA

• CAPTOPRIL	V.U.	F.G.	(N=5)	Na SÉRICO	FNs	V.U.Ns	F.L.Ns	Hemato- crito	TA	(N=5)	(N=5)
TIEMPO (MIN)	ml/mln	ml/mln	FSRT ml/mln	mg/L	µg/min	µg/mln	%	%	mmHg	TA/FSRT mmHg/ml/mln	EPAH %
0-10	0.30±0.04	27.6±5.26	399±126	146.5±1.0%	3676±835	20.0±4.2	0.66±0.17	45.5±1.79	99.0±6.72	0.35±0.07	52.5±3.96
10-20	0.31±0.03	23.5±2.62	344±77.9	146.5±1.13	3441±4.9	21.1±4.4	0.68±0.20	46.3±1.75	98.1±7.47	0.40±0.14	53.4±5.55
20-30	0.27±0.04	16.7±1.59	274±55.1	146.8±1.15	2160±180	18.0±4.5	0.76±0.24	47.3±2.04	100.5±7.75	0.42±0.10	55.8±4.56

EXPANSION SALINA

90-100	0.73±0.15	43.6±7.92	565±133	145.6±2.41	5973±1196	62.4±22.7	1.42±0.62	42.5±2.06	108.6±9.43	0.25±0.07	47.9±5.74
100-110	2.03±0.42	31.0±6.36	487±95	149.0±1.37	4729±943	183.3±52.6	4.46±1.57	36.0±1.59	100.6±7.67	0.27±0.05	45.2±4.44
110-120	3.38±0.68	29.0±2.54	356±51	149.1±1.57	5760±757	263.5±85.3	4.75±1.60	34.9±1.83	112.6±7.55	0.33±0.05	49.2±3.47
120-130	3.98±0.68	27.0±4.81	385±77	150.5±2.33	5630±950	274.9±85.3	5.71±1.88	34.4±2.36	113.3±6.49	0.36±0.09	50.2±6.33
130-140	4.46±0.71	36.7±5.36	477±83	150.0±1.55	7616±2189	289.4±86.1	5.24±1.97	32.1±2.38	115.0±6.57	0.28±0.06	42.5±6.94
140-150	3.73±0.81	30.4±7.67	506±125	151.6±2.29	5134±1078	237.1±64.0	5.63±2.23	33.3±2.49	112.6±6.20	0.33±0.13	47.7±6.89

Peso: 21±0.88

Porcentaje de expansión del volumen corporal = 8

T A B L A 9

GRUPO IV  
EXPANSION

POSOLPLLACION  
+ CAPIOPRIL

114 MPO (MIN)	V.O. ml/min	F.G. ml/min	FSRI ml/min	Na SÉRICO μEq/L	INa μEq/mln	V.O., Na μEq/mln	F.L.Na %	Hemato- critico %	TA mmHg	TA/FSRI mmHg/ml/min	EPAll %
0-10	0.37±0.06	24.9±4.53	286±34.9	145.6±0.57	3952±681	36.0±11.7	1.04±0.23	49.4±2.93	99.8±5.79	0.38±0.06	47.5±8.31
10-20	0.33±0.03	21.2±3.47	278±54.2	146.5±0.89	3459±578	32.9±11.2	1.03±0.21	48.7±2.93	98.8±5.96	0.43±0.07	44.5±7.06
20-30	0.30±0.04	22.8±4.36	278±33.4	145.9±1.02	3508±687	32.4±9.02	0.91±0.19	48.0±3.18	99.6±6.00	0.39±0.06	50.8±7.60

DEPLECCION VOLUMEN

EXPANSION SALINA

90-100	0.55±0.05	34.3±6.61	580±129	148.7±0.77	5071±1073	47.1±11.6	1.27±0.37	37.7±2.73	94.3±4.28	0.24±0.07	46.1±9.72
100-110	1.19±0.23	25.2±6.36	388±93.8	149.0±0.84	4598±867	89.1±14.1	2.82±0.50	33.2±2.69	99.1±4.44	0.32±0.05	45.6±8.96
110-120	1.84±0.46	34.9±9.59	288±69.4	147.8±2.44	5674±1327	97.4±15.3	2.81±0.56	30.1±7.37	102.0±3.71	0.44±0.07	42.5±7.66
120-130	2.28±0.62	21.9±2.71	252±43.2	150.6±0.81	4794±1168	106.8±14.1	3.41±0.47	28.1±1.91	104.1±3.26	0.44±0.05	45.6±6.17
130-140	2.74±0.68	31.4±7.14	240±41.2	150.5±0.87	4785±1175	114.8±16.7	3.69±0.68	29.2±7.37	102.1±4.36	0.49±0.07	45.8±5.47
140-150	2.35±0.60	20.1±4.00	291±61.2	150.1±0.98	4460±1258	119.5±18.9	4.15±0.71	29.0±7.40	102.3±6.45	0.45±0.09	44.1±5.52

Peso: 18.6±1.63

Porcentaje de expansión del volumen corporal = 8



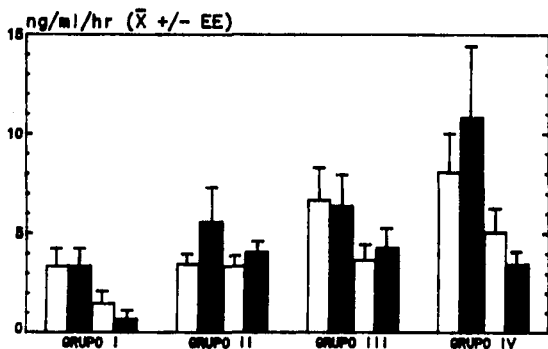
iniciar la expansión salina, los perros tratados con captopril (IV) tuvieron flujo sanguíneo renal significativamente mayor que los no tratados con esta droga (II). En este periodo (tablas 7 y 9) los flujos sanguíneos renales fueron de  $580 \pm 129$  ml/min para el grupo IV y  $234 \pm 31$  para el grupo II ( $t=2.6$ ,  $p<0.05$ ). El resto del experimento, aunque los flujos sanguíneos del grupo IV fueron mayores, las diferencias no fueron significativas.

Comportamiento de la actividad plasmática de renina y de la aldosterona en los cuatro grupos.

Los grupos que recibieron el captopril (III y IV) tuvieron APR en estado basal significativamente mayor que los que no recibieron esta droga (I y II), tanto en sangre arterial como en la proveniente de la vena renal derecha. Después de la depleción de volumen, los perros de los grupos II y IV, mostraron un aumento importante de la APR. Posteriormente, durante la expansión salina, en los cuatro grupos se observó disminución significativa. (Figura 7) (En las figuras 7 y 8, la primera barra corresponde al periodo basal; la segunda al periodo pre-expansión, es decir, una hora después del reposo; la tercera a la mitad de la expansión y la cuarta al final de la misma).

La aldosterona basal de los cuatro grupos fue similar, aunque hubo tendencia a ser menor en los grupos que recibieron captopril (III y IV) (Figura 8). Después de la depleción de volumen y aun durante parte del periodo de expansión salina, la aldosterona aumentó significativamente en el grupo II y, al terminar la expansión salina, regresó a niveles basales. En cambio, en el

## ACTIVIDAD PLASMÁTICA DE RENINA ARTERIAL



## VENOSA RENAL

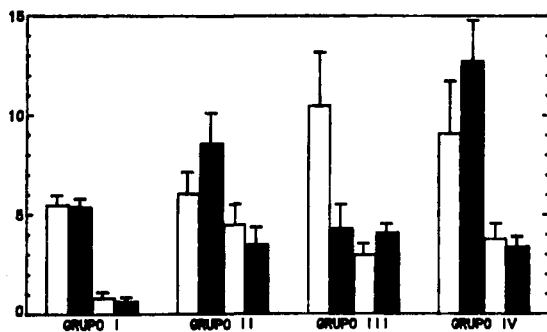


FIGURA 7.- Actividad plasmática de renina arterial (arriba) y venosa (abajo) en los cuatro grupos estudiados. Grupo I expansión; Grupo II depleción; Grupo III expansión + captooril y Grupo IV depleción + captooril.

# ALDOSTERONA SANGRE ARTERIAL

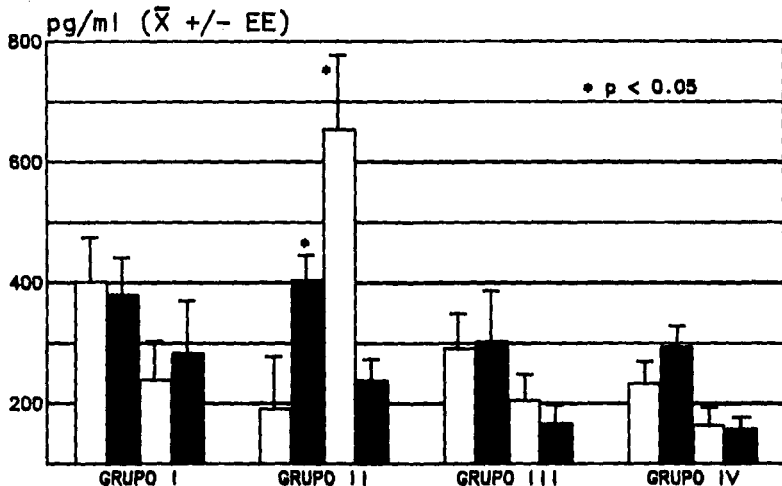


FIGURA 8.-Aldosterona sérica en los cuatro grupos estudiados. Grupo I expansión. Grupo II depleción. Grupo III expansión + captopril. Grupo IV depleción + captopril

grupo IV, a pesar del mismo grado de depleción de volumen, no hubo incremento en los niveles de aldosterona. Además, esta disminuyó significativamente durante la expansión salina. Finalmente, en los grupos no depletados de volumen (I y III) la aldosterona disminuyó durante la expansión salina.

### Resultados de histopatología

Se estudiaron cuatro riñones; dos de ellos provenían de perros sometidos a depleción de volumen y dos de perros con depleción de volumen pero tratados con dosis altas de captopril. Las muestras fueron tomadas al terminar la hora de reposo que siguió a la depleción aguda de volumen. La tinción histológica utilizada fue la de inmunoperoxidasa contra angiotensina II. Como se observa en las figuras 9 y 10, los riñones de los perros depletados de volumen, sin captopril, tienen positividad a angiotensina II en los túbulos proximales. Esta se identifica como una coloración café oscuro dentro de los túbulos. En cambio, en los perros que recibieron captopril no se observó positividad alguna con esta tinción. El control utilizado fueron las arterias y arteriolas de la misma preparación, las cuales también mostraron intensa coloración en los perros sin captopril y negatividad en aquellos tratados con esta droga (Datos no mostrados).

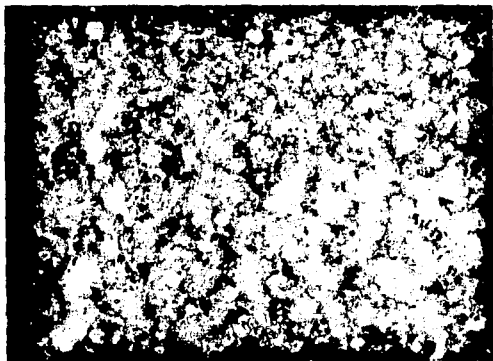


FIGURA 9.- Riñón de perro sometido a depleción aguda de volumen.  
Tinción: Inmunoperoxidasa contra angiotensina II (20 x).

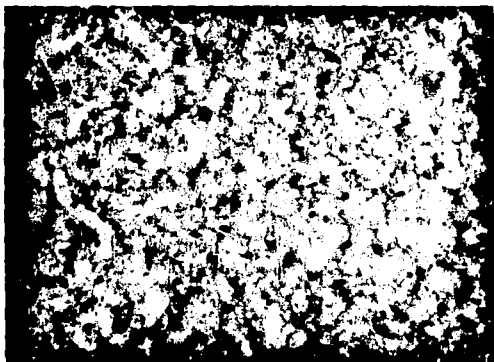


FIGURA 10.- Riñón de perro sometido a depleción aguda de volumen y  
dosis altas de captopril.  
Tinción: Inmunoperoxidasa contra angiotensina II (20 x).

## DISCUSION

Los resultados presentados demuestran que la depleción aguda de volumen es un potente estímulo antinatriurético que se corrige solo parcialmente con la expansión brusca del espacio extracelular. Además, demuestran que esta antinatriuresis se presenta independientemente del tratamiento con captopril, lo que sugiere que la AGII no es la responsable de este fenómeno.

Los animales de los grupos con depleción (II y IV) tuvieron una respuesta natriurética significativamente menor que la de los perros sometidos únicamente a expansión (I y III), a pesar de que todos recibieron el mismo porcentaje de expansión del volumen corporal: 8%.

La disminución en la respuesta a la expansión salina en los grupos II y IV no puede ser explicada por factores hemodinámicos. No encontramos ninguna diferencia en el comportamiento de la FG entre los cuatro grupos, lo que elimina la posibilidad de que la causa de la antinatriuresis fuera disfunción glomerular. Además, durante la expansión, la FF de sodio fue similar entre los cuatro grupos, mientras que la excreción fraccional de sodio fue significativamente menor en los grupos II y IV, lo que sugiere que el fenómeno observado es de origen tubular.

El flujo sanguíneo renal también tuvo comportamiento similar en los cuatro grupos. En todos se mantuvo por arriba de 100 ml/min durante todo el experimento. Al iniciar la expansión salina el flujo aumentó significativamente en los grupos III y IV. Este

fenómeno fue secundario al tratamiento con captopril como veremos mas adelante.

La presión arterial media tampoco puede explicar este fenómeno. Si bien el grupo IV se mantuvo con TAM ligeramente por debajo de los otros grupos, nunca fue menor a 95 mmHg y además no encontramos que esta diferencia fuera significativa, a excepción de la interacción entre la presencia de depleción y el captopril, con la expansión salina (Apendice F). No creemos que la menor natriuresis de presión pudiera explicar satisfactoriamente el hecho de que el captopril no bloqueara el fenómeno antinatriurético posdepleción, ya que según demostraron Guyton et al (52) (Figura 2) y Navar et al (85), en los animales tratados con captopril la curva de natriuresis de presión se desvía hacia la izquierda y aumenta su pendiente, lo que significa que aumenta la sensibilidad a la natriuresis de presión y, por lo tanto, se requiere de menor presión para alcanzar el mismo grado de natriuresis. De hecho, como ambos autores lo expresan (52,85), son los estados de alta actividad de angiotensina II los que desvían la curva hacia la derecha y por tanto, se requiere de mayor TAM para obtener la misma natriuresis. De cualquier forma, para estar completamente seguros en este punto, se requiere de tener un grupo experimental en que no exista ninguna diferencia en TAM. Este probablemente se pueda obtener con infusión de norepinefrina en perros tratados con captopril.

Debido a la depleción o deshidratación producida en los grupos II y IV pudiera sugerirse que a pesar de que la expansión corporal fue similar en los cuatro grupos, quizá la expansión

intravascular fue menor en los animales depletados y que esto explicaría la diferencia en la respuesta a la expansión salina (86). Sin embargo, pensamos que la expansión fue similar en ambos grupos o, inclusive, mayor en los grupos depletados ya que en un trabajo similar, Peña et al (8) observaron que los animales sujetos a depleción tienen mayor ganancia de peso al término de la expansión salina. Además, si la inadecuada expansión del volumen intravascular fuera la causante de este fenómeno antinatriurético, entonces la excreción fraccional de sodio y el sodio excretado hubieran sido iguales en todos los grupos.

Los perros sometidos a depleción de volumen tuvieron un descenso mayor en el hematocrito. Además, Peña et al (8) observaron que los perros depletados de volumen disminuyen más las proteínas plasmáticas durante la expansión. Esta disminución tan marcada (en los grupos de depleción), tanto del hematocrito como de las proteínas es debido a que por un lado, los animales fueron sangrados y por lo tanto al expandirse con solución salina se hace evidente el menor hematocrito y la menor concentración de proteínas plasmáticas. Por otro lado, estos animales producen menor orina. El hecho de que los animales depletados tengan menor concentración de proteínas plasmáticas durante la expansión es un dato importante en contra de que el responsable de la antinatriuresis sean los factores físicos peritubulares. Según esta teoría, la disminución de la presión oncótica del plasma debería de disminuir la reabsorción peritubular ya que el hecho de que no hubo diferencia en la filtración glomerular, flujo sanguíneo renal ni fracción de filtración entre los cuatro grupos, sugiere que la presión hidrostática fue similar en todos los



animales. Por lo tanto, los animales depletados de volumen, que desarrollan hipoproteinemia por dilución mas acentuada que los sometidos únicamente a expansión, deberían de tener mayor natriuresis. La única excepción a este punto es que los animales depletados, por algún motivo, desarrollaran aumento en la presión hidrostática intersticial que balanceara las fuerzas de Starling. Hasta el momento, no se ha realizado esta medición en este modelo experimental.

La posibilidad de que la redistribución intrarrenal del flujo sanguíneo fuera la causa de la antinatriuresis ya fue descartada previamente por Peña et al (8). En ese trabajo, se realizaron experimentos similares a los aquí presentados, solo que en perros a los que se les infundió acetilcolina en la arteria renal izquierda, con objeto de producir vasodilatación renal máxima. Los resultados mostraron que en el grupo sujeto a depleción la antinatriuresis se presentó a pesar de la administración de la acetilcolina.

El presente trabajo sugiere que la AGII no es la responsable de la antinatriuresis que sigue a la depleción de volumen. Los perros del grupo IV tuvieron una respuesta a la expansión salina similar (inclusive ligeramente menor) a la observada en el grupo II. La excreción urinaria de sodio, el volumen urinario y la excreción fraccional de ambos grupos fue similar y, a su vez, menor que las de los grupos I y III. La menor presión arterial de este grupo no explica el fenómeno ya que la FG y el flujo sanguíneo renal fueron similares a los de los demás grupos.

Tenemos suficientes evidencias que sugieren que tanto el

grupo III como el IV tuvieron bloqueo intenso de la enzima convertidora de angiotensina: Primero, la dosis de captopril utilizada en este trabajo es la que previamente se demostró que bloquea totalmente la respuesta hipertensora a la administración de angiotensina I en el perro (49). Segundo, los grupos que recibieron captopril tuvieron, durante la expansión salina, flujo sanguíneo renal mayor, con resistencia renal y extracción de para-aminohipurato menor que los grupos control. La AGII produce vasoconstricción preferentemente en la arteriola eferente aunque también lo hace en la aferente (23). Este efecto se acompaña de disminución del flujo sanguíneo, con ligero aumento en la FG y aumento de la FF. Por lo tanto, el aumento en el flujo sanguíneo, con caída de resistencias renales, es una evidencia del bloqueo en la generación de AGII. Tercero, la secreción de aldosterona, aumentada después de la depleción en el grupo II, fue totalmente abolida por el captopril en el grupo IV, lo que nuevamente sugiere ausencia de AGII en respuesta a la depleción. Cuarto, los grupos III y IV tuvieron APR mayores en estado basal que los grupos I y II. Finalmente, los hallazgos histológicos con la tinción de inmunoperoxidasa mostraron, en el grupo II, intensa reacción positiva para AGII tanto en los túbulos proximales como en las arterias. En cambio, en el grupo IV, sujeto al mismo grado de depleción, la tinción fue negativa.

Es interesante mencionar el hecho de que en el grupo III hubo un aumento significativamente mayor en el volumen urinario que en el grupo I. Como la excreción de sodio fue similar en ambos grupos, esto sugiere mayor depuración de agua libre en el grupo III. Este efecto de los inhibidores de la enzima convertidora de

angiotensina ya se habia informado previamente (87). Es probable que, durante la expansión salina, al estar inhibida la producción de AGII por el captopril, disminuya la reabsorción proximal de sodio y por lo tanto, la carga de este ion que llega a la parte ascendente del asa de Henle sea mayor y entonces, el co-transporte de  $\text{Na}^+ : \text{K}^+ : 2\text{Cl}^-$  en esta región (88-89) reabsorba mayor cantidad de  $\text{Na}^+$  y con ello genere líquido tubular hipotónico y aumento en la depuración de agua libre.

La aldosterona también puede ser eliminada razonablemente como la causa de este fenómeno. Desde el trabajo clásico de de Wardener (1) se demostró que la natriuresis que sigue a la expansión salina se presenta a pesar de la administración de dosis máximas de mineralocorticoides. Posteriormente, Peña et al (9) demostraron que las diferencias observadas en los grupos sujetos a expansión salina y a expansión posdepleción permanecen a pesar de la infusión continua de aldosterona. Finalmente, aunque en el presente trabajo, el aumento brusco de aldosterona en el grupo II sugiere su participación en el desarrollo de la antinatriuresis que sigue a la depleción de volumen, el bloqueo de este aumento en el grupo IV descarta esta posibilidad ya que, en este grupo, el fenómeno de antinatriuresis se presentó a pesar de que no hubo elevación en la aldosterona.

El factor natriurético auricular (FNA) recientemente descubierto (90) es una hormona peptídica, secretada por las aurículas en respuesta a la expansión de volumen, con una potente acción natriurética (91-95). Su mecanismo de acción a nivel renal es doble: Por un lado, aumenta la FG porque produce

vasoconstricción aferente con vasodilatación aferente (96) y, por otro lado, inhibe la reabsorción de sodio en el túbulo colector medular interno (97-100). Además, el FNA es un vasodilatador sistémico (101), inhibe la secreción de aldosterona (102-103) y al parecer también la de renina (104-105). Los experimentos en animales de laboratorio han mostrado efectos renales intensos ante la administración del FNA (91-94). Sin embargo, todavía no está claro cuál es el papel que juega el FNA en la natriuresis que sigue a la expansión salina. Los trabajos de Fried y Stein (106-107) y de Naruse et al (108) sugieren que el FNA es indispensable para la adecuada respuesta natriurética posexpansión. En estos trabajos, los animales en los que se bloqueó la elevación de la presión auricular derecha no desarrollaron natriuresis durante la expansión salina (106-107) y, en los que se administraron anticuerpos contra FNA (108) tuvieron disminución marcada de la natriuresis. En contra de estos resultados está el trabajo de Gortz et al (109) en el cual se observó que la denervación cardíaca en perros disminuye la respuesta natriurética posexpansión, a pesar de que la elevación del FNA fue similar a los controles.

Si realmente el FNA es el responsable de la natriuresis que sigue a la expansión salina, podría postularse que la causa del fenómeno de antinatriuresis fuera la insuficiente elevación del FNA durante la expansión, en los animales previamente sometidos a depleción de volumen.

Por fallas técnicas el FNA no pudo determinarse en el presente trabajo. Sin embargo, no creemos que la insuficiente elevación de esta hormona durante la expansión salina sea la causa

de este fenómeno. No existe evidencia de que la depleción de volumen sea un estímulo inhibitorio para la secreción de FNA. En sujetos con cirrosis hepática, reconocido estado de depleción intravascular (110), la administración de solución salina (111) o la inmersión en agua (112-113) estimula la secreción de FNA en forma similar a los controles. Además, el GMPc urinario se eleva igual que en los controles (112), lo que indica que, además de que el FNA se eleva en forma normal, no hay resistencia a su efecto.

El papel del sistema nervioso autónomo (SNA) en la regulación del sodio y agua corporales no ha sido bien dilucidado. Existen terminaciones nerviosas simpáticas en la corteza renal (114,115), localizadas principalmente en los túbulos proximales y distales. Desde que se inició el estudio de la influencia del SNA en la función renal se han publicado resultados opuestos de varios grupos y con modelos experimentales parecidos. Es importante aclarar que en general los estudios que apoyan la hipótesis de que el sistema adrenérgico interviene en la reabsorción de sodio y agua se han realizado en animales anestesiados o sujetos a stress quirúrgico.

En 1966 Gill y Barter (116) informaron que el bloqueo del sistema autónomo con guanetidina en seres humanos reducía la capacidad de retener sodio durante la dieta baja en sal y, que al parecer, este hallazgo se relacionó con defecto en la reabsorción tubular de sodio. En cambio, años mas tarde, Wilcox et al (117) observaron que los enfermos con disfunción autonómica (síndrome de Shy-drager) retenían sodio durante la privación de sal. La diferencia entre estos dos estudios al parecer es la presión

arterial sistémica. En el estudio de Wilcox et al (117) es evidente que los enfermos retuvieron sal por hipotensión postural, ya que solo disminuían su excreción de sodio durante el día. Después, durante la década de los 70, varios autores informaron, tanto en el perro como en la rata, que el SNA tiene un efecto directo sobre la reabsorción tubular de sal (118-122). Sin embargo, nuevamente la principal crítica a estos estudios es que todos están realizados en animales anestesiados que están propensos a alteraciones en la hemodinámica glomerular, lo cual podría explicar los cambios observados en la excreción de sodio. Recientemente, el grupo de DiBona et al (123-124) observaron en tres modelos de animales despiertos (ratas con insuficiencia cardiaca por infarto de miocardio, síndrome nefrótico por adriamicina y cirrosis hepática por ligadura de los conductos biliares) que la respuesta renal a la expansión salina está disminuida y que con la denervación renal bilateral se recupera la respuesta normal. En estos trabajos se observó que la disminución en la excreción de sodio en los animales no denervados se acompaña de un aumento en la actividad eferente simpática, cuantificado en los nervios renales. Con estos resultados, los autores sugieren que en estos modelos, la menor respuesta renal a la carga aguda de solución salina depende en parte de un aumento en la actividad del sistema adrenérgico. Por lo tanto, esta es una evidencia a favor de que el SNA juegue un papel importante en la regulación de la excreción urinaria de sodio. Sin embargo, no existe evidencia de que este sea el mecanismo responsable de la retención de sodio en estos estados patológicos. De hecho, hay trabajos que muestran lo contrario. Mizelle et al (125) demostraron que el SNA no es

necesario para la retención de sodio durante el desarrollo de insuficiencia cardiaca. En este trabajo, los autores estudiaron perros despiertos en los que previamente se denervó el riñón izquierdo y se colocó un marcapaso ventricular con el objeto de producir insuficiencia cardiaca por taquicardia. Cada riñón se estudió por separado. Los resultados mostraron que tanto en los perros con insuficiencia cardiaca compensada, como en los que retuvieron sal y desarrollaron edema pulmonar; la función renal y la retención de sodio fueron idénticas en ambos riñones. Por lo tanto, este estudio es una evidencia en contra de la hiperactividad del SNA como la causante de retención de sodio en la insuficiencia cardiaca.

Los ejemplos anteriores demuestran que no se conoce aun cuál es el papel real del SNA en la regulación del sodio y agua corporales. Hasta el momento, no hemos retado el modelo experimental del presente trabajo en perros con denervación renal y, por lo tanto, no podemos descartar al sistema adrenérgico como el causante de este fenómeno. Sin embargo, el trabajo publicado por Lifschitz en 1979 (126) elimina razonablemente esta posibilidad. Es ese estudio se utilizó un modelo similar al nuestro solo que en perros despiertos y con denervación renal izquierda. Los animales fueron sometidos a dos protocolos: Primero, expansión de volumen (5% del peso corporal) seguida de depleción (2% del peso corporal). Siete a diecinueve días después, se sometieron al protocolo inverso: Depleción de volumen seguida 30 minutos después por expansión salina. En el primer protocolo la excreción fraccional de sodio durante la expansión fue de  $4.7 \pm$

0.5% en el riñón denervado y  $5.6 \pm 0.6\%$  en el innervado. Con la hemorragia disminuyó a  $1.1 \pm 0.2$  y  $1.4 \pm 0.3\%$ , respectivamente. En el segundo protocolo, la excreción fraccional de sodio en la expansión posdepleción fue de  $2.04 \pm 0.32 \%$  en el riñón denervado y  $2.7 \pm 0.6$  en el innervado. Los cambios en la FG y en el flujo sanguíneo renal fueron idénticos en ambos riñones. Además, los valores de fracción excretada de sodio obtenidos en ambos riñones durante la expansión salina y durante la expansión posdepleción son similares a los obtenidos en el presente trabajo (Tablas 6 y 7). Por lo tanto, esta es una evidencia fuerte en contra de que el SNA sea el responsable del fenómeno de antinatriuresis aquí estudiado.

En conclusión, el presente trabajo sugiere que el sistema renina angiotensina aldosterona no es el responsable de la antinatriuresis que sigue a la depleción aguda de volumen. No tenemos hasta el momento una explicación clara de cuál o cuales son los mecanismos responsables de este fenómeno. Sin embargo, la hipótesis que se antoja probable es la existencia de un mecanismo regulador intrarrenal de la excreción de sodio. Esta regulación podría estar mediada por: 1.-Mecanismos hemodinámicos (FG, FSRT, TAM, Kf). 2.-La participación de un factor antinatriuretico renal (hormona o autacoide) que se libera en respuesta a la depleción de volumen. 3.-Aumento (up-regulation) de los co y contra-transportadores de sodio que pueden aumentar como respuesta directa a la depleción, o bien, resultado de la liberación del factor intrarrenal ya mencionado.

Los trabajos de Osgood et al (5) y de Ichikawa et al (127) apoyan esta hipótesis. Osgood et al (5) produjeron, en ratas,



estenosis de la arteria renal izquierda durante una hora. Al término de esta se produjo expansión salina. Los resultados mostraron que el riñón no estenosado aumentó la excreción fraccional de sodio; en cambio, el riñón izquierdo, no aumentó su excreción fraccional de sal. Es evidente que durante la expansión ambos riñones estuvieron sujetos a los mismos factores hemodinámicos (la FG y el FPR fueron similares entre ambos riñones) y/o hormonales sistémicos, así como, a la misma actividad del SNA. Sin embargo, el riñón que estuvo estenosado la hora previa a la expansión retuvo sal. Ichikawa et al (127) produjeron síndrome nefrótico únicamente en el riñón izquierdo, de ratas a las que les administraron intra-arterialmente aminonucleósido de puromicina. Los resultados mostraron que solo el riñón afectado retuvo sal y que, por lo tanto, la antinatriuresis en este síndrome no la determinan factores sistémicos a los cuales evidentemente estuvo expuesto el riñón contralateral. Además, recientemente, Pedraza-Chaverri et al (128) demostraron que cuando se inyecta aminonucleósido de puromicina sistémico en ratas, con el objeto de producir síndrome nefrótico, el primer cambio observado, al segundo día, es la disminución en la excreción urinaria de sodio; inclusive antes de que se presente la proteinuria, lo que nuevamente sugiere activación de mecanismos antinatriuréticos intrarrenales, no relacionados con los cambios sistémicos que ocurren o se presentan días después.

Es probable entonces que, la disminución del volumen circulante estimule uno o varios mecanismos intrarrenales capaces de retener sodio y que la expansión salina aguda, intensa y

sostenida, (es decir, estimulación aferente del corazón, vasos arteriales, sistema nervioso autónomo, factor natriurético auricular) sea incapaz de impedir la reabsorción tubular de sodio secundaria a la depleción aguda de volumen. Este mismo mecanismo puede operar en los padecimientos que cursan con edema (cirrosis hepática, insuficiencia cardiaca congestiva y síndrome nefrótico); en ellos, los estímulos aferentes ya señalados, y el bloqueo del sistema renina angiotensina y de los mecanismos adrenérgicos, son incapaces de inducir diuresis o natriuresis; solo la administración de diuréticos potentes (furosemide, ácido etacrínico) que bloquean el transporte de Na<sup>+</sup> directamente en la rama ascendente del asa de Henle inducen natriuresis, en este tipo de pacientes. Esta observación apoya aun mas la participación y presencia de mecanismos intrarrenales, no solo en la regulación fisiológica de la excreción de sodio, sino también en los estados fisiopatológicos antes señalados. La depleción aguda de volumen no es mas que un modelo de estudio pertinente que nos ha permitido caracterizar algunos de estos factores o variables reguladores de la excreción de sal.

APENDICE A

EXCRECION URINARIA DE SODIO (uEq/min)

TABLA DE ANOVA DE TRES VIAS PARA MUESTRAS REPETIDAS

Factor	Sumatoria de cuadrados	g.l.	cuadrados medios	F*	P
Depleción de volumen	640600.3	1	640600.3	12.28	<0.005
Captopril	41177.0	1	41177.0	0.78	NS
Interacción dep x capt	54977.0	1	54977.0	1.05	NS
Error	1043212.0	20	52160.6		
Expansión salina (tiempo)	1611997.0	8	201499.6	36.51	<0.0001
Interacción dep x tiempo	472699.5	8	59087.4	10.70	<.05
Interacción capt x tiempo	79565.0	8	9945.6	1.80	NS
Interacción dep x capt x tiempo	21244.0	8	2655.5	0.48	NS
Error	882950.0	160	5518.4		

\*= Nivel crítico (alfa 2):  $1/20 = 5.87$   
 $8/160 = 2.27$

g.l.= grados de libertad

APENDICE B

VOLUMEN URINARIO (ml/min)

TABLA DE ANOVA DE TRES VIAS PARA MUESTRAS REPETIDAS

Factor	Sumatoria de cuadrados	g.l.	cuadrados medios	F*	P
Depleción de volumen	22.54	1	22.54	5.16	NS
Captopril	14.00	1	14.00	3.20	NS
Interacción dep x capt	2.16	1	2.16	0.49	NS
Error	87.37	20	4.36		
Expansión salina (Tiempo)	243.1	8	30.39	51.86	<0.0001
Interacción dep x tiempo	20.95	8	2.61	4.47	<0.02
Interacción capt x tiempo	13.92	8	1.74	2.97	<0.05
Interacción dep x capt x tiempo	2.27	8	0.28	0.48	NS
Error	93.75	160	0.58		

\*= Nivel critico (alfa 2):  $1/20 = 5.87$   
 $8/160 = 2.27$

g.l.= grados de libertad

APENDICE C

FILTRACION GLOMERULAR (ml/min)

TABLA DE ANOVA DE TRES VIAS PARA MUESTRAS REPETIDAS

Factor	Sumatoria de cuadrados	g.l.	cuadrados medios	F*	P
Depleción de volumen	2090.48	1	2090.48	1.74	NS
Captopril	332.95	1	332.95	0.27	NS
Interacción dep x capt	599.68	1	599.68	0.49	NS
Error	24017.64	20	24017.64		
Expansión salina (Tiempo)	5124.43	8	640.55	4.84	<0.05
Interacción dep x tiempo	1048.71	8	131.08	0.99	NS
Interacción capt x tiempo	966.84	8	120.85	0.91	NS
Interacción dep x capt x tiempo	360.54	8	45.06	0.34	NS
Error	21154.00	160	132.21		

\*= Nivel critico (alfa 2):  $1/20 = 5.87$   
 $8/160 = 2.27$

g.l.= grados de libertad

APENDICE D

FRACCION EXCRETADA DE SODIO (%)

TABLA DE ANOVA DE TRES VIAS PARA MUESTRAS REPETIDAS

Factor	Sumatoria de cuadrados	g.l.	cuadrados medios	F*	P
Depleción de volumen	120.8	1	120.8	5.07	NS
Captopril	0.1	1	0.1	0.005	NS
Interacción dep x capt	18.5	1	18.5	0.77	NS
Error	475.9	20	32.7		
Expansión salina (tiempo)	677.6	8	84.7	36.39	<0.0001
Interacción dep x tiempo	105.3	8	13.1	5.50	<0.02
Interacción capt x tiempo	4.0	8	0.5	0.21	NS
Interacción dep x capt x tiempo	9.2	8	1.1	0.48	NS
Error	382.9	160	2.3		

\*= Nivel critico (alfa 2):  $1/20 = 5.87$   
 $8/160 = 2.27$

g.l.= grados de libertad

APENDICE E

FLUJO SANGUINEO RENAL TOTAL (ml/min)

TABLA DE ANOVA DE TRES VIAS PARA MUESTRAS REPETIDAS

Factor	Sumatoria de cuadrados	g.l.	cuadrados medios	F*	P
Depleción de volumen	87351	1	87351	1.00	NS
Captopril	1082757	1	1082757	12.48	<0.01
Interacción dep x capt	4252	1	4252	0.09	NS
Error	1734838	20	13173		
Expansión salina (Tiempo)	256832	8	32104	2.43	<0.05
Interacción dep x tiempo	147061	8	18382	1.39	NS
Interacción capt x tiempo	195906	8	24488	1.85	NS
Interacción dep x capt x tiempo	75250	8	9406	0.71	NS
Error	2107731	160	13173		

\*= Nivel crítico (alfa 2):  $1/20 = 5.87$   
 $8/160 = 2.27$

g.l.= grados de libertad

APENDICE F

TENSION ARTERIAL MEDIA (mmHg)

TABLA DE ANOVA DE TRES VIAS PARA MUESTRAS REPETIDAS

Factor	Sumatoria de cuadrados	g.l.	cuadrados medios	F*	P
Depleción de volumen	378.5	1	378.5	0.21	NS
Captopril	1944.0	1	1944.0	1.08	NS
Interacción dep x capt	1194.7	1	1194.7	0.66	NS
Error	35871.2	20	35871.2		
Expansión salina (tiempo)	3374.2	8	421.7	12.11	<0.02
Interacción dep x tiempo	209.5	8	26.1	0.75	NS
Interacción capt x tiempo	114.2	8	14.28	0.41	NS
Interacción dep x capt x tiempo	1039.2	8	129.9	3.37	<0.05
Error	5569.7	160	34.8		

\*= Nivel crítico (alfa 2):  $1/20 = 5.87$   
 $8/160 = 2.27$   
 g.l.= grados de libertad



APENDICE G

HEMATOCRITO (%)

TABLA DE ANOVA DE TRES VIAS PARA MUESTRAS REPETIDAS

Factor	Sumatoria de cuadrados	g.l.	cuadrados medios	F*	P
Depleción de volumen	506.65	1	506.65	2.43	NS
Captopril	107.00	1	107.00	0.51	NS
Interacción dep x capt	48.65	1	48.65	0.23	NS
Error	4166.59	20	208.32		
Expansión salina (Tiempo)	12338.94	8	1542.36	229.56	<0.00001
Interacción dep x tiempo	542.18	8	67.77	10.08	<0.05
Interacción capt x tiempo	76.56	8	9.57	1.42	NS
Interacción dep x capt x tiempo	39.00	8	4.87	0.72	NS
Error	1074.96	160	6.71		

\*= Nivel critico (alfa 2):  $1/20 = 5.87$   
 $8/160 = 2.27$   
 g.l.= grados de libertad

## BIBLIOGRAFIA

- 1.-de Wardener HE, Mills IH, Clapham WF, et al. Studies on the efferent mechanism of the sodium diuresis which follows the intravenous administration of saline in the dog. Clin Sci., 21: 249, 1961.
- 2.-Martino JA & Early LE. Demonstration of the role of physical factors as determinants of natriuretic response to volume expansion. J. Clin. Invest., 46: 1963, 1967.
- 3.-Brenner BM, Troy JL, Daugharty TM, et al. Quantitative importance of changes in postglomerular colloid osmotic pressure in mediating glomerulotubular balance in the rat. J. Clin. Invest., 52: 190, 1973.
- 4.-Ordoñez A, Navarrete R, Tellez R, et al. Magnitud relativa del efecto de la dilución de proteínas plasmáticas en la diuresis salina. Rev. Invest. Clin., 22: 217, 1970.
- 5.-Osgood RW, Lameire NH, Sorkin MI, et al. Effect of aortic clamping on proximal reabsorption and sodium excretion in the rat. Am. J. Physiol., 232: F92, 1977.
- 6.-Ichikawa I & Brenner BM. Mechanism of inhibition of proximal tubule fluid reabsorption after exposure of the rat kidney to the physical effects of expansion of extracellular fluid volume. J. Clin. Invest., 64: 1466, 1979.
- 7.-Ott CE, Haas JA, Cuche JL, et al. Effect of increased peritubule protein concentration on proximal tubule reabsorption in the presence and absence of extracellular volume depletion. J. Clin. Invest., 55: 612, 1975.
- 8.-Peña JC, Sandoval R, Maycott P, et al. Efecto de la expansión salina en perros depletados de volumen antes y después de la vasodilatación renal. Rev. Invest. Clin., 24: 341, 1972.
- 9.-Peña JC, Lennhoff M & Vasquez A. Cambios en la reabsorción tubular proximal y distal de sodio, en el nefrón del perro depletado y expandido de volumen. Rev. Invest. Clin., 23: 261, 1971.
- 10.-Rivera A, Flores A, Suarez MA, et al. Sodium retention following diuretic therapy. Clin. Pharmacol. & Therap., 5: 286, 1964.
- 11.-Ramírez Acosta J, de Lille R & Peña JC. Influencia de la expansión de volumen extracelular durante el pre y transoperatorio en la excreción urinaria de sodio, potasio y agua en el postoperatorio inmediato. Rev. Invest. Clin., 24: 401, 1972.

- 12.-Peña JC, Ruiz F, & Abraham J. Impaired water excretion following diuretic therapy. Clin. Pharmacol. & Therap., 10: 110, 1969.
- 13.-Page IH. Action of peripherally administered angiotensin on arterial pressure. In Page IH, Editor. Hypertension mechanisms. Grune & Straton Inc. 1987. p. 380.
- 14.-Fitzsimons JT. The effect on drinking of peptide precursors and of shorter chain peptide fragments of angiotensin II injected into the rat's diencephalon. J. Physiol (London)., 214: 295, 1971.
- 15.-Scroop GC & Lowe RD. Efferent pathways of the cardiovascular response to vertebral artery infusions of angiotensin II in the dog. Clin. Sci., 37: 605, 1969.
- 16.-Koch-Weser J. Nature of inotropic action of angiotensin on ventricular myocardium. Cir. Res., 16: 230, 1965.
- 17.-Campbell WB, Brooks SN & Pettinger WA. Angiotensin II and angiotensin III induced aldosterone release in vivo in the rat. Science., 184: 994, 1974.
- 18.-Husain A, Bumpus FM, DeSilve P, et al. Localization of angiotensin II receptors in ovarian follicles and the identification of angiotensin II in rat ovaries. Proc. Natl. Acad. Sci. USA., 84: 2489, 1987.
- 19.-Pellicer A, Palumbo A, Decherney AH, et al. Blockage of ovulation by an angiotensin agonist. Science., 240: 1660, 1988.
- 20.-Berk BC, Vekshtein V, Gordon HM, et al. Angiotensin II-stimulated protein synthesis in cultured vascular smooth muscle cells. Hypertension., 13: 305, 1989.
- 21.-Naftilan AJ, Pratt RE, Eldridge CS, et al. Angiotensin II induces c-fos expression in smooth muscle via transcriptional control. Hypertension., 13: 706, 1989.
- 22.-Millan MA, Carvallo P, Izumi SI, et al. Novel sites of expression of functional angiotensin II receptors in the late gestation fetus. Science., 244: 1340, 1989.
- 23.-Myers B.D., Deen W.M. & Brenner B.M. Effects of norepinephrine and angiotensin II on the determinants of glomerular ultrafiltration and proximal tubule fluid reabsorption in the rat. Cir Res., 37: 101, 1975.
- 24.-Blantz R.C., Konnen K.S. & Tucker B.J. Angiotensin II effects upon the glomerular microcirculation and ultrafiltration coefficient of the rat. J Clin Invest., 57: 419, 1976.

- 25.-Baylis C & Brenner B.M. Modulation by prostaglandin synthesis inhibitors of the action of exogenous angiotensin II on glomerular ultrafiltration in the rat. Circ Res., 43: 889, 1978.
- 26.-Lance D., Ichikawa I & Brenner B.M. Hormonal modulation of glomerular function. Am J Physiol., 244: F95, 1983.
- 27.-Romero J.C. & Knox F.G. Mechanisms underlying pressure related natriuresis: the role of renin angiotensin and prostaglandin systems. Hypertension., 11: 724, 1988.
- 28.-Karnovsky MJ & Kreisberg JI. Isolation and characterization of rat glomerular cells in vitro. En A. Maunsbush Ed. correlation of renal ultrastructure and function. Academic Press, Inc. New York, 1980.
- 29.-Ausiello D.A., Kreisberg J.I., Roy C, et al. Contraction of cultured rat glomerular cells of apparent mesangial origin after stimulation with angiotensin II and arginine vasopressin. J Clin Invest., 65: 754, 1980.
- 30.-Ichikawa I., Miele J.F. & Brenner B.M. Reversal of renal cortical actions of angiotensin II by verapamil and manganese. Kidney Int., 16: 137, 1979.
- 31.-Pfeilschifter J.M. Cellular signalling in the kidney: The role of inositol lipids. Renal physiol Biochem., 12: 1, 1989.
- 32.-Pfeilschifter J & Bauer C. Pertussis toxin abolishes angiotensin II-induced phosphoinositide hydrolysis and prostaglandin synthesis in rat renal mesangial cells. Biochem J., 236: 289, 1986.
- 33.-Inhorn RC, Bausal VS & Majerus PW. Pathway for 1,3,4-trisphosphate and 1-4 biphosphate metabolism. Proc. Natl. Acad. Sci. USA., 84: 2170, 1987.
- 34.-Putney JW, Takemura H, Hughes AR, et al. How do inositol phosphates regulate calcium signaling? FASEB J., 3: 1899, 1989.
- 35.-Pfeilschifter J. Protein kinase C from rat renal mesangial cells: its role in homologous desensitization of angiotensin II-induced polyphosphoinositide hydrolysis. Biochem. Biophys. Acta., 969: 263, 1988.
- 36.-Dworkin LD & Feiner HD. Glomerular injury in uninephrectomized spontaneously hypertensive rats. A consequence of glomerular capillary hypertension. J. Clin. Invest., 77: 797, 1986.
- 37.-Zats R, Dunn R, Meyer TW, et al. Prevention of diabetic glomerulopathy by pharmacological amelioration of glomerular capillary hypertension. J. Clin. Invest., 77: 1925, 1986.

- 38.-Naris RG & Krishua GG. Diabetic nephropaty: the basis for dietary and converting enzyme inhibitor therapy. Am. J. Hyperten., 1: 215, 1988.
- 39.-Anderson S, Diamond JR, Karnovsky MJ et al. Mechanism underlying transition from acute glomerular injury to late glomerular sclerosis in rat model of nephrotic syndrome. J. Clin. Invest., 82: 1757, 1988.
- 40.-Garcia DL, Rennke HG, Brenner BM, et al. Chronic glucocorticoid therapy amplifies glomerular injury in rats with renal ablation. J. Clin. Invest., 80: 867, 1987.
- 41.-Anderson S, Rennke HG & Brenner BM. Therapeutic advantage of converting enzyme inhibitors in arresting progressive renal disease associated with systemic hypertension in rat. J. Clin. Invest., 77: 1993, 1986.
- 42.-Anderson S, Meyer TW, Rennke HG, et al. Control of glomerular hypertension limits glomerular injury in rats with reduced renal mass. J. Clin. Invest., 76: 612, 1983.
- 43.-Hostteter TH, Rennke HG, Brenner BM, et al. The case for intrarenal hypertension in the initiation and progression of diabetic and other glomerulopathies. Am. J. Med., 72: 375, 1982.
- 44.-Bjorck S, Nyberg G, Mulec H et al. Benefical effects of angiotensin converting enzyme inhibition on renal function in patients with diabetes mellitus. Br. Med. J., 293: 471, 1986.
- 45.-Taguma Y, Kitamoto Y, Futak G, et al. Effect of captopril on heavy proteinuria in azotemic diabetes. N. Eng. J. Med., 313: 1617, 1985.
- 46.-Anderson S & Brenner BM. Therapeutic benefit of converting enzyme inhibition in progressive renal disease. Am. J. Hyperten., 1: 380S, 1988.
- 47.-Johnson MD & Malvin RL. Stimulation of renal sodium reabsorption by angiotensin II. Am J Physiol., 232: F298, 1977.
- 48.-Schuster VL, Kokko JP & Jacobson HR. Angiotensin II directly stimulates sodium transport in rabbit proximal convoluted tubules. J Clin Invest., 73: 507, 1984.
- 49.-Olsen ME, Hall JE, Montani JP, et al. Mechanism of angiotensin II natriuresis and antinatriuresis. Am J Physiol., 249: F299, 1985.
- 50.-Hall JE, Guyton AC, Trippodo NC, et al. Intrarenal control of electrolyte excretion by angiotensin II. Am J Physiol., 232: F538, 1977.

- 51.-Harris PJ & Navar GL. Tubular transport responses to angiotensin. Am J Physiol., 248: F621, 1985.
- 52.-Hall JE, Guyton AC, Smith MJ et al. Blood pressure and renal function during chronic changes in sodium intake: role of angiotensin. Am. J. Physiol., 293: F280, 1980.
- 53.-Mendelshon FAN, Doubar M, Allen A, et al. Angiotensin II receptors in the kidney. Fed Proc., 45: 1420, 1986.
- 54.-Douglas JG. Angiotensin receptors subtypes of the kidney cortex. Am J Physiol., 253: F1, 1987.
- 55.-Ballerman BJ, Levenson DJ, & Brenner BM. Renin, angiotensin, kinins, prostaglandins and leukotrienes. In Brenner B.M. and Rector F.J. Editors. The Kidney. W.B.Saunders 3th ed. P 281. 1986.
- 56.-Skorecki KL, Ballerman H, Rennke HG, et al. Angiotensin II receptor regulation in isolated renal glomeruli. Federation Proc., 42: 3064, 1983.
- 57.-Inagami T, Kawamura M, Naruse K, et al. Localization of components of the renin-angiotensin system in the rat kidney. Federation Proc., 45: 1414, 1986.
- 58.-Mujais SK, Kauffman S, & Katz AI. Angiotensin II binding sites in individual segments of the rat nephron. J Clin Invest., 77: 315, 1986.
- 59.-Liu FY, & Cogan MG. Angiotensin II: A potent regulatory of acidification in the rat early proximal convoluted tubule. J Clin Invest., 80: 272, 1987.
- 60.-Saccomani G, Mitchell KD, & Navar GL. Stimulation of Na<sup>+</sup>/H<sup>+</sup> exchange by angiotensin II in renal proximal cells. Kidney Int., 35: 303, 1989.
- 61.-Liu FY, & Cogan MG. Angiotensin II (AII) stimulates acidification in early (S1) proximal convoluted tubule (PCT) by decreasing cAMP. Kidney Int., 35: 458, 1989.
- 62.-Vallega GA, Canessa ML, Berk BC, et al. Vascular smooth muscle Na<sup>+</sup>-H exchanger kinetics and its activation by angiotensin II. Am J Physiol., 254: C751, 1988.
- 63.-Smith JB. Angiotensin-receptor signaling in cultured vascular smooth muscle cells. Am. J. Physiol., 250: F759, 1986.
- 64.-Morduchowicks G & Yanagana N. Angiotensin II directly increase sodium transport by renal brush border membrane. Role of phospholipase A2. Kidney Int., 35: 302, 1989.

- 65.-Reid IA. The renin-angiotensin system and body function. Arch. Intern. Med., 145: 1475, 1985.
- 66.-Re RN. The renin-angiotensin system. Med. Clin. North. Am., 71: 877, 1987.
- 67.-Pedraza-Chaverri J., Ibarra-Rubio ME, Cruz C., et al. Mensajeros intracelulares en la regulación de la secreción de renina. Rev. Invest. Clin., 41: 165, 1989.
- 68.-Fray JCS. Stimulus secretion coupling of renin: role of hemodynamics and other factors. Circ. Res., 47: 485, 1980.
- 69.-Freeman RH & Davis JO. Factor controlling renin secretion and metabolism. En: Genest J, Kuchel D, Hamet P & Cantin M. Hypertension. McGraw-Hill Book Company. New York, USA. p. 225, 1983.
- 70.-Itoh S & Carretero OA. Role of the macula densa in renin release. Hypertension., 7 (Suppl. I): 23, 1986.
- 71.-Davison W & Sackner MA. Simplification of the anthrone method for the determination of inulin in clearance studies. J. Lab. Clin. Med., 62: 351, 1963.
- 72.-Smith HW, Finkelstein N, Aliminoso L, et al. The renal clearance of substituted hippuric acid derivatives and other aromatic acid in dog and man. J. Clin. Invest., 24: 388, 1945.
- 73.-Lynch MJ, Raphael SS, Mellor LD, et al Ed. Métodos de laboratorio. Segunda Edición. Editorial Interamericana. México, D.F. 1972.
- 74.-Pedraza-Chaverri J, Zuñiga-Estrada A, Ibarra-Rubio ME, et al. Producción de anticuerpos policlonales para la cuantificación del decapeptido angiotensina I por radioinmunoanálisis. Rev. Invest. Clin., 40: 365, 1988.
- 75.-Preibisz JJ, Sealey JE, Aceto RM, et al. Plasma renin activity measurements: an update. Cardiovasc. Rev. Rep., 3: 787, 1982.
- 76.-Pedraza-Chaverri J, Sanchez MCC, Ibarra-Rubio ME, et al. Obtención de anticuerpos contra angiotensina II. Rev. Invest. Clin., 40: 245, 1988.
- 77.-Sternberg LA. Immunocytochemistry. Second Ed. John Wiley and Sons. New York, USA. 1979.
- 78.-Mukai K & Rosai J. Applications of immunoperoxidase techniques in surgical pathology. En Fenoglio CM & Wolff M Editores. Progress in surgical pathology. Masson Publications Inc. New York, USA. Vol 1, p15, 1980.

- 79.-Nadji M & Morales AR. Immunoperoxidase: Part I. The technique and its pitfalls. Lab. Med., 14: 767, 1983.
- 80.-NWA-Statpak. Multi-functional statistics library. Version 3.1. Northwest Analytical Inc. Portland, Oregon, USA. 1984
- 81.-Zar JH. Biostatistical analysis. Fourth Ed. Prentice-Hall Book Company. New York, 1984.
- 82.-Armitage P. Further analysis of variance. En Armitage Ed. Statistical methods in medical research. Third Ed. Blackwell Scientific Publications. Oxford. p.217, 1971.
- 83.-Wallenstein S, Zucker CL & Fleiss JL. Some statistical methods in circulation research. Cir. Res., 47: 1, 1980.
- 84.-Slinker BK & Glantz SA. Multiple linear regression is a useful alternative to traditional analyses of variances. Am. J. Physiol., 255: R353, 1988.
- 85.-Navar GL, Jirakulsomochok D, Bell D, et al. Influence of converting enzyme inhibition on renal hemodynamics and glomerular dynamics in sodium restricted dogs. Hypertension., 4: 58, 1982.
- 86.-Sonnenberg H & Pearce JW. Renal response to measured blood volume expansion in differently hydrated dogs. Am. J. Physiol., 203: 344, 1962.
- 87.-Levens NR, Peach MJ, Vaughan D, et al. Demonstration of a primary antidiuretic action of angiotensin II: Effects of intrarenal converting enzyme inhibition in the conscious dog. Endocrinology., 106, 318, 1981.
- 88.-Hebert SC & Andreoli TE. Control of NaCl transport in the thick ascending limb. Am. J. Physiol., 246: F745, 1984.
- 89.-Kokko JP. Transport characteristics of the thin limbs of Henle. Kidney Int., 22: 449, 1982.
- 90.-De Bold AJ, Boresnten HB, Veress AT, et al. A rapid and potent natriuretic response to intravenous injection of atrial myocardial extract in rats. Life Sci., 28: 89, 1981.
- 91.-Ballerman BJ & Brenner BM. Biological active atrial peptide. J. Clin. Invest., 76: 2041, 1985.
- 92.-Laragh JH. Atrial natriuretic hormone, the renin aldosterone axis and blood pressure electrolyte homeostasis. N. Eng. J. Med., 313: 1330, 1985.
- 93.-Raine AEG, Firth JG, & Ledingham JGG. Renal action of atrial natriuretic factor. Clin Sci., 76: 1, 1989.



- 94.-Lange RE, Tholken H, Ganten D, et al. Atrial natriuretic factor. A circulation hormone stimulated by volume loading. Nature., 314: 264, 1985.
- 95.-Huang ChL, Lewicki L, Johnson LK, et al. Renal mechanism of action of rat atrial natriuretic factor. J. Clin. Invest., 75: 769, 1985.
- 96.-Marin-Grez M, Fleming JT & Steinhausen M. Atrial natriuretic peptide causes pre-glomerular vasodilatation and post-glomerular vasoconstriction in the rat kidney. Nature., 324: 473, 1986.
- 97.-Sonnenberg H, Honrath U, Chong CK, et al. Atrial natriuretic factor inhibits sodium transport in medullary collecting duct. Am. J. Physiol., 250: F963, 1986.
- 98.-Zeidel ML. Direct transport effects of atrial natriuretic peptides in inner medullary collecting duct cells. En Brenner BM & Laragh JH Editors. Advances in atrial peptide research. Vol. II. Raven Press Assoc. New York. p 109, 1988.
- 99.-Zeidel ML, Seifter JL, Lear S, et al. Atrial peptides inhibit oxygen consumption in kidney medullary collecting duct cells. Am J Physiol., 251: F379, 1986.
- 100.-Zeidel ML, Silva P, Brenner BM, et al. cGMP mediates effects of atrial peptides on medullary collecting duct cells. Am J Physiol., 252: F551, 1987.
- 101.-Kleinert HD, Maack T, Atlas SA, et al. Atrial natriuretic factor inhibits angiotensin, norepinephrine and potassium induced vascular contractility. Hypertension., 6-I: 143, 1984.
- 102.-Atarashi K, Murlow PJ, Saenz R, et al. Inhibition of aldosterone production by atrial extract. Science., 224: 992, 1984.
- 103.-Schiffrin EL & Chartier I. Mechanism of action of atrial natriuretic peptide in adrenal glomerulosa cells: Blockade of calcium influx. Hypertension., 8: 826, 1986.
- 104.-Villarreal D, Freeman RH, Davis JO, et al. Renal mechanism for suppression of renin secretion by atrial natriuretic factor. Hypertension., 8-II: 28, 1986.
- 105.-Obana K, Naruse M, Naruse K, et al. Synthetic rat atrial natriuretic factor inhibits in vitro and in vivo renin secretion in rats. Endocrinology., 117: 1282, 1985.
- 106.-Fried TA, Ayen MA, McDonald G, et al. Atrial natriuretic peptide, right atrial pressure, and sodium excretion rate in the rat. Am. J. Physiol., 253: F969, 1987.

- 107.-Fried TA & Stein JH. The physiologic role of atrial natriuretic peptide in acute volume expansion. En Brenner BM & Laragh JH. Advances in atrial peptide research. Vol II. Raven Press, New York, USA. p101, 1988.
- 108.-Naruse M, Ohana K, Naruse K, et al. Antisera to atrial natriuretic factor reduces urinary sodium excretion and increase plasma renin activity in rats. Biochem. Biophys. Res. Commun., 132: 954, 1985.
- 109.-Goetz KL, Wang BC, Geer PG, et al. Atrial stretch increase sodium excretion independently of release of atrial peptide. Am. J. Physiol., 250: R946, 1986.
- 110.-Schrier RW, Arroyo V, Bernardi M, et al. Peripheral arterial vasodilation hypotesis. A proposal for the initiation of renal sodium and water retention in cirrhosis. Hepatology., 8: 1151, 1988.
- 111.-Epstein M. Atrial natriuretic factor in patients with liver disease. Am. J. Nephrol., 9: 89, 1989.
- 112.-Skoreck KL, Leung WM, Campbell P, et al. Role of atrial natriuretic peptide in the natriuretic response to central volume expansion induced by head-out water immersion in sodium-retaining cirrhotic subjets. Am. J. Med., 85: 375, 1988.
- 113.-Epstein M, Loutzenhiser R, Norsk P, et al. Relationship between plasma atrial natriuretic factor responsiveness and renal sodium handling in cirrhotic humans. Am. J. Nephrol., 9: 133, 1989.
- 114.-Barajas L & Muller J. The innervation of the juxtaglomerular apparatus and surrounding tubules: A quantitative analysis by serial section electron microscopy. J. Ultrastruct. Res., 43: 107, 1973.
- 115.-DiBona GF. Neurogenic regulation of renal tubulas sodium reabsorption. Am. J. Physiol., 233: F73, 1977.
- 116.-Gill JR & Bartter FC. Adrenergic Nervous system in sodium metabolism. II. effect of guanethidine on the renal response to sodium deprivation in man. N. Eng. J. Med., 275: 1466, 1966.
- 117.-Wilcox CS, Aminoff MJ & Slater DH. Sodium homeostasis in patients with autonomic failure. Clin. Sci. Mol. Med., 53: 321, 1977.
- 118.-Bello-Reuss E, Colindres RE, Pastoriza-Muñoz E, et al. Effects of acute unilateral renal denervation in the rat. J. Clin. Invest., 56: 208, 1975.
- 119.-DiBona GF, Zambranski EJ, Aquilera A, et al. Neurogenic control of renal tubular sodium reabsorption in the dog. Circ. Res., 40 (I): I-127, 1977.

120.-Gottschalk CW. Renal nerves and sodium excretion. Ann. Rev. Physiol., 41: 229, 1979.

121.-Takacs L, Bencsath P, & Demeczky L. Renal sodium and water excretion after unilateral splanchnicotomy in the dog. Acta. Physiol. Acad. Sci. Hung., 39: 283, 1971.

122.-Schirer RW & deWardener HE. Tubular reabsorption of sodium ion: Influence of factors other than aldosterone and glomerular filtration rate. N. Eng. J. Med., 285: 1231, 1971.

123.-DiBona GF, Herman PJ & Sawin LL. Neural control of renal function in edema-forming states. Am. J. Physiol., 254: R1017, 1988.

124.-Herman PJ, Sawin LL & DiBona GF. Role of renal nerves in renal sodium retention of nephrotic syndrome. Am. J. Physiol., 256: F823, 1989.

125.-Mizelle HL, Hall JE & Montani JP. Role of renal nerves in control of sodium excretion in chronic congestive heart failure. Am. J. Physiol., 256: F1084, 1989.

126.-Lifschitz MD. Lack of a role for the renal nerves in renal sodium reabsorption in conscious dogs. Clin. Sci. Mol. Med., 54: 567, 1978.

127.-Ichikawa J, Rennke J, Hoger J, et al. Role of intrarenal mechanisms in impaired salt excretion of experimental nephrotic syndrome. J. Clin. Invest., 71: 91, 1983.

128.-Pedraza-Chaverri J, Cruz C, Ibarra-Rubio ME, et al. Pathophysiology of experimental nephrotic syndrome induced by puromycin aminonucleoside in rats. I.-The role of proteinuria, hypoproteinemia and renin angiotensin aldosterone system on the sodium retention. Rev. Invest. Clin., 1990: 42 (1) En prensa.