

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE MEDICINA
División de Estudios de Posgrado

DEPARTAMENTO DE FISILOGIA

PROBABLE EXISTENCIA DE SENSORES EN EL RINON QUE RESPONDEN
A LOS CAMBIOS EN LA VELOCIDAD DE LA CONSERVACION TUBULAR
DE SODIO

Tesis que para obtener el grado de
Maestra en Ciencias Biomédicas
(Fisiología)

p r e s e n t a

Martha Patricia Rosas Arellano

(Becaria de CONACYT Reg. No. 47969)

1990

Tesis apoyada por el programa de fortalecimiento
al Posgrado, C O N A C Y T No. 121.

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.

RESUMEN

Hay pruebas de la existencia de un mecanismo central denominado sistema antinatriurético (SAN) que participa en el control del contenido corporal de sodio (Na^+) regulando su excreción renal. Este mecanismo cuenta con sensores en la vecindad del III ventrículo cerebral que registran la concentración de Na^+ en el líquido intersticial que los baña. Las observaciones que prueban la existencia del SAN indican que la información de esos sensores modula las acciones que a su vez regulan la excreción renal de Na^+ y con eso el control del contenido corporal del ión. También, demuestran que este mecanismo homeostático es independiente de aquel que rige al sistema antidiurético. La acción del SAN se manifiesta por la drástica antinatriuresis y antidiuresis que sigue a la sobrehidratación y además en la reducción del flujo urinario cuando se inhibe la conservación de Na^+ por un natriurético, durante la diuresis causada por sobrehidratación repetida. En este último caso, la respuesta antidiurética es inmediata y recuerda aquella respuesta observada en el animal que se sobrehidrata por primera vez, sugiriendo la participación de otros natriosensores situados en el riñón (NSR) también integrantes del SAN, que informan al mecanismo central de la inhibición del transporte tubular del catión. Para obtener evidencias que indicaran la existencia de NSR, se registró la actividad aferente del nervio renal (AANR) en un riñón aislado de rata, mediante un electrodo bipolar de Ag-AgCl . Durante el registro se colectaron muestras de orina en periodos de 10 min para observar los cambios del flujo urinario y de la excreción de Na^+ durante el registro de la AANR. La activación de los NSR se infirió por las modificaciones de la AANR asociadas a la perfusión del riñón con un inhibidor (furosemida (F)) o con un facilitador (hidrocortisona (H)) del transporte de Na^+ . Bajo la influencia de la F la frecuencia de descarga multiunitaria aumentó, obteniéndose un efecto máximo a los 15 y 20 min después de su administración, mientras que, con la H, la frecuencia de esa descarga disminuyó al momento de la estimulación. Las modificaciones del flujo urinario y de la excreción de Na^+ mostraron cualitativamente una relación con los cambios que produjo la H en la AANR, sin embargo, sólo en una de las preparaciones con F se manifestó esta relación, indicando esto último que la F muestra cambios compensatorios a nivel del túbulo distal. El análisis de varianza de los datos de flujo urinario y de excreción de Na^+ aplicado a los grupos experimentales con una significancia de 0.05, no indicó diferencias significativas intergrupo ni intragrupo. Estos resultados sugieren la existencia de receptores de Na^+ en el epitelio tubular que al activarse con los cambios en la conservación de Na^+ , producen una modificación en la AANR. Además, los datos sugieren que el mecanismo efector del SAN central cuenta con un asa recurrente que participa en la función del integrador homeostático central para la regulación del contenido de Na^+ en el líquido extracelular.

INDICE

	páginas
INTRODUCCION	1
MECANISMOS DE REGULACION	1
HOMEOSTASIS DEL LIQUIDO EXTRACELULAR: LOS SISTEMAS ANTIDIURETICO Y ANTINATRIURETICO EN LA REGULACION DE AGUA Y SODIO	4
-Generalidades	4
-Sistema antidiurético	9
-Sistema antinatriurético	16
PAPEL DE LOS NERVIOS RENALES EN LA REGULACION DE LA EXCRECION DE SODIO	29
-Neuroanatomía renal	29
-Electrofisiología de aferencias renales	34
-Influencia de los nervios renales en la regulación de la excreción de sodio	36
FARMACOS QUE AFECTAN LA EXCRECION RENAL DE SODIO	38
-Consideraciones fisiológicas en la reabsorción de sodio	38
-Acción farmacológica de la furosemida y de la hidrocortisona	42
PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	49
-Hipótesis y Objetivos	52
MÉTODOS	54
-Preparación Biológica	55
-Registro y análisis	59
RESULTADOS	63
DISCUSION	79
REFERENCIAS	91

INTRODUCCION

MECANISMOS DE REGULACION.

A lo largo de la evolución, los organismos han sufrido una serie de modificaciones anatómicas y fisiológicas que, neutralizando influencias perturbadoras, les han permitido adaptarse al medio. Entre éstas se identifican: la falta de alimento, escasez de agua, cambios de temperatura, cambios de la concentración de gases, presencia de depredadores y alteraciones en su medio interno. Así, la subsistencia de un organismo y la de su especie está garantizada cuanto más rápidas y significativas sean sus respuestas neutralizantes a estas influencias perturbadoras, por lo que el organismo requiere de mecanismos de regulación capaces de detectar estas influencias perturbadoras y de suspender la respuesta cuando ésta ya no le es útil. Los mecanismos de regulación mantienen las funciones del organismo y las variables involucradas en estas funciones en un valor constante: el valor de referencia. El mantenimiento de la constancia de las funciones del organismo es un principio biológico conocido como homeostasis.

En esencia, los mecanismos reguladores forman ciclos cerrados en el organismo (figura 1). Estos están conformados de una asa de entrada, constituida por un sistema de sensores o receptores que registran el cambio de la constante regulada y de una vía aferente que conduce esa información a un integrador. Este traduce e interpreta el mensaje del

MECANISMO REGULADOR

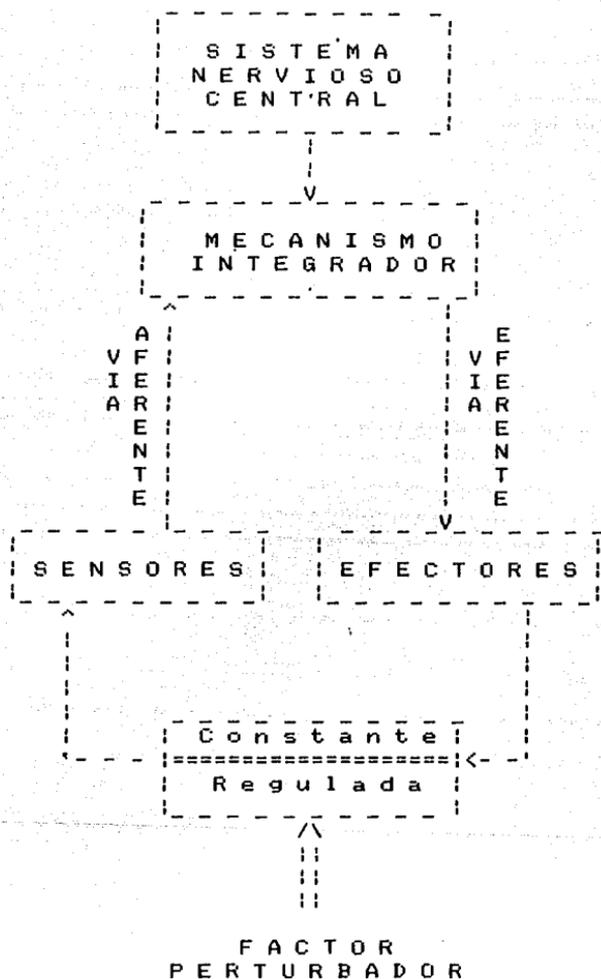


FIGURA 1: Diagrama de un proceso homeostático cerrado. La doble línea interrumpida (=) representa el asa recurrente del sistema.

sensor lo que permite, en función del valor de referencia de la variable que regula, diseñar la respuesta correctiva pertinente. En el asa de salida del sistema integrador esa respuesta se transmite al efector por la vía eferente. Al operar el efector, la constante regulada se acerca a su valor de referencia, el sistema de sensores informa la anulación progresiva del cambio y el sistema integrador regresa a su nivel original de actividad, constituyéndose así el asa recurrente. Una de las particularidades más notables de las respuestas homeostáticas es que su magnitud es proporcional al cambio que las suscita. Tal correspondencia se manifiesta por una acción inicial tanto más intensa cuanto mayor es la desviación del valor de referencia de la constante regulada pero que va atenuándose a medida que la alteración se corrige. Eso limita o impide la sobrecorrección del cambio inicial y contribuye a estrechar el margen en que se mantienen muchas constantes fisiológicas. Por otra parte, si bien la organización descrita asegura la activación automática de los dispositivos homeostáticos cuando se altera el valor de la constante regulada correspondiente, no excluye que influencias moduladoras de más alta jerarquía funcional, con base en las prioridades del organismo, puedan modificar la respuesta del mecanismo homeostático modulando la participación del sensor, el valor de referencia de la constante o la acción del efector (Gunther y Hodgson, 1972; Bravo y cols., 1972; Guevara, 1988).

HOMEOSTASIS DEL LIQUIDO EXTRACELULAR : LOS SISTEMAS ANTIDIURETICO Y ANTINATRIURETICO EN LA REGULACION DE LA EXCRECION RENAL DE AGUA Y SODIO.

Generalidades.

El estudio de la homeostasis del medio interno o liquido extracelular (LEC) ha llevado a identificar los diversos mecanismos de regulaci3n que rigen el balance acuoso y salino y a analizar la organizaci3n de los procesos involucrados. Sin embargo, el conocimiento sobre esos mecanismos es a3n incompleto.

El LEC ba3a todas las c3lulas del cuerpo, su fracci3n intravascular es esencialmente m3vil mientras que la fracci3n intersticial circula muy lentamente. Esto asegura que la comunicaci3n de unas 3reas tisulares con otras y la de las c3lulas en general con el ambiente externo sea muy r3pida y eficaz. La composici3n del LEC y la del liquido intracelular de las diferentes c3lulas son casi invariables y difieren radicalmente entre si, lo que es importante desde un punto de vista electroquimico. La membrana celular es impermeable a los principales aniones celulares (las prote3nas) pero adem3s, exquisitamente selectiva en relaci3n con los cationes, lo que le permite mantener alta la concentraci3n del i3n potasio dentro de la c3lula mientras que en el exterior se concentra el i3n sodio (Na^+). De 3sto depende que la cara citoplasm3tica de la membrana sea negativa respecto a la cara externa. As3, aunque existe una diferencia cualitativa i3nica, existe tambi3n una notable

equivalencia cuantitativa, puesto que la osmolaridad del contenido celular es igual a la del ambiente que rodea a la célula (Bernard, 1859; Cannon, 1932). Mas aún, el que se mantenga constante la osmolaridad de cada compartimento determina que el gradiente de potencial químico sea igual en ambas partes, de tal modo que, el agua corporal total está determinada por la cantidad total de solutos en el organismo; ésta igualdad se debe a que el agua difunde libremente a través de las membranas celulares en respuesta a un gradiente de concentración. Así, cuando la osmolaridad extracelular aumenta debido a la pérdida de agua o a un aumento de los solutos, el agua difunde rápidamente del espacio intracelular al espacio extracelular hasta restablecer de nuevo el equilibrio osmótico. Inversamente, cuando la osmolaridad extracelular disminuye debido a un aumento de agua o a una pérdida de solutos, el agua difunde rápidamente hacia el interior de la célula hasta volver a reestablecer el equilibrio osmótico. Estos cambios en la osmolaridad extracelular también determinan un aumento o una disminución compensatoria en el agua corporal total, lo que permite llevar a la normalidad a la presión osmótica (Robertson, 1983).

El valor normal de la osmolaridad en los organismos constituye un parámetro no sólo de una notable constancia sino, además, quizá es un término de referencia, una constante regulada, para los mecanismos homeostáticos que gobiernan al LEC a través de la regulación del contenido

corporal de agua y de sodio (Andersson, 1978; Guevara, 1984/85). Así, el contenido del LEC representa en cada momento el resultado del balance entre el aporte al organismo y la excreción renal de ambas sustancias. Debido a que el aporte de ellas puede ser fortuito puesto que depende de que sean accesibles y, debido a que la excreción renal depende del superávit, cabe considerar el papel del riñón en el proceso de dicho balance (Starling, 1909; Cannon, 1932).

Con respecto al agua, en el sujeto normal en condiciones ordinarias, el riñón simplemente mantiene el balance al excretar al superávit que representa la diferencia entre el volumen ingerido y el volumen de las pérdidas por evaporación insensible, agua fecal y orina obligatoria. Por lo que toca al Na⁺, en general, su aporte es pequeño y su principal vía de salida es el riñón cuyo papel, en rigor, es conservarlo. En efecto, el sistema tubular de este órgano es capaz de conservar el 98% de la orina glomerular, es decir de la cantidad del LEC que el corazón extrae de la sangre por ultrafiltración a nivel de los capilares del glomérulo. El 2% restante, sin embargo, representa alrededor de 20 g de cloruro de sodio (NaCl) por día, que pueden perderse si no actúan los mecanismos de regulación del contenido corporal de agua y Na⁺, es decir los mecanismos que gobiernan el volumen y la osmolaridad del LEC. El riñón a nivel del túbulo distal, constituye un efector sobre el cual los mecanismos centrales ejercen una acción neurohumoral cuya importancia es vital. Un ejemplo es la incapacidad del riñón de conservar el Na⁺ en los casos de insuficiencia suprarrenal que conduce

a la deshidratación y a la muerte por la pérdida de ese 2% de Na^+ (contenidos en unos dos litros diarios de LEC) filtrado en el glomérulo y que, no pueden recuperarse (Roemmelt y cols., 1949; Conn, 1955).

Es así como la organización estructural para la regulación del LEC gira en torno a dos variables cardinales: la osmolaridad y el volumen.

En la literatura aún no se ha precisado con exactitud los factores y la compleja organización estructural de los sistemas que aseguran la homeostasis del LEC.

Después de una extensa y profunda revisión de trabajos sobre la homeostasis de los líquidos corporales, Smith (1957) y Guevara (1984/85) sugieren que los efectos en la excreción renal de agua y Na^+ producidos por cambios volumétricos u osmóticos en los líquidos corporales, dependen del continuo ajuste de la osmolaridad así como del contenido corporal de agua y Na^+ . El estudio de estos efectos les permitió proponer la participación de dos mecanismos o sistemas que aseguran la homeostasis del LEC y que pueden ser excitados e inhibidos de manera por completo independiente, designando así, como sistema antidiurético (SAD) y como sistema antinatriurético (SAN), a los procesos fisiológicos respectivos que rigen la conservación renal de agua osmóticamente libre por un lado y la de Na^+ por el otro.

Smith en 1957, al revisar los factores que participan en la regulación de agua y Na^+ estructuró e integró el conocimiento hasta entonces existente, permitiéndole esto,

ser el primero en postular la existencia de receptores específicos al volumen de agua y al Na^+ considerándolos como integrantes respectivos del SAD y del SAN. Para sustentar el mecanismo de acción de los sistemas postulados tuvo que caracterizar cada uno de los eventos que se efectúan durante la excreción renal de agua y Na^+ . Además definió diversos términos, entre ellos, al flujo urinario como el cambio transitorio de la eliminación renal de la orina obligatoria, a la diuresis como el aumento y a la antidiuresis como la disminución de la excreción de agua osmóticamente libre, al mismo tiempo, definió, respectivamente natriuresis y antinatriuresis como el aumento o disminución en la excreción renal del Na^+ .

Por otro lado, Guevara (1974) demostró la existencia funcional del SAD y el SAN en dos procesos diferentes: la ingestión acuosa restringida en mujeres así como en la sobrehidratación en perras. En ambas pruebas se observó que, las curvas de diuresis tuvieron una variación concomitante de la excreción renal de agua y Na^+ , asociándose ambas con cambios en la concentración de sodio ($[\text{Na}^+]$) plasmático, lo cual le sugirió además una posible interdependencia funcional de ambos sistemas.

El propósito del análisis que a continuación se hace del SAD y del SAN es el de presentar los hechos que llevaron a la postulación de dos sistemas independientes mediante los cuales se lleva a cabo el balance del agua y Na^+ en el LEC, así como, las evidencias con las cuales se desarrolló el concepto del osmorreceptor y del natriorreceptor.

Sistema Antidiurético.

En los trabajos pioneros de Verney (1922-1957) sobre el contenido corporal de agua, se señala por primera vez al riñón como el efector en la homeostasis de la osmolaridad del LEC y en ellos se reporta la existencia de un sistema central que participa en la regulación del balance acuoso, apoyando al mismo tiempo, una participación neurohumoral para la conservación renal de agua.

Verney inició sus estudios motivado por informes de casos de diabetes insípida donde se reportaba la relación de la poliuria (aumento de la diuresis acuosa) y de la polidipsia (aumento de la ingestión de agua) con los cuadros patológicos hipofisarios así como con las alteraciones de las estructuras neurales vecinas (Frank, 1912). Como Farini y Von del Valden (1913) ya habían demostrado el efecto antidiurético de los extractos de la hipófisis posterior en la poliuria que caracteriza a la diabetes insípida, Verney y colegas (1926) decidieron comprobar si existía una participación humoral de la porción neural de la hipófisis así como de las estructuras hipotálamicas en la regulación del contenido corporal de agua.

Starling y Verney (1922, 1925), en una preparación de riñón aislado de perro, perfundido a una presión constante, comprobaron la existencia de un factor antidiurético (conocido actualmente como hormona antidiurética (HAD) ó vasopresina) que influía sobre la regulación de la excreción renal de agua, ya que al agregar pituitrina (extracto de

neurohipófisis) en el líquido de perfusión, observaron que la abundante diuresis acuosa característica del riñón aislado fué suprimida y se asoció con un aumento de la excreción de cloruros. En 1926, Verney, para identificar el origen de este factor, intercaló en paralelo la cabeza de un perro con el riñón aislado y reprodujo en forma aproximada los efectos ocasionados por la pituitrina en el riñón aislado. Estos resultados le permitieron postular que la influencia inhibitoria sobre la diuresis acuosa provenia de alguna estructura del sistema nervioso central (SNC).

Verney (1947) basado en los datos anteriores, y en evidencias como lo es el fenómeno de diuresis acuosa que se produce en perros integros conscientes al administrar por via oral un volumen de agua (Heller y Smirk, 1932; Klisiecki y cols., 1933), y basado también en los datos de Fischer y colegas (1938) sobre la ausencia de HAD en la orina de gatos y de monos con diabetes insípida producida experimentalmente mediante la sección del tallo pituitario, decidió averiguar que factores estaban involucrados en la liberación de la HAD. Así pués, Verney logró suprimir la diuresis acuosa en curso, de perros integros bien hidratados, al inyectar por via intracarotidea soluciones hipertónicas de sodio (sulfato de sodio y NaCl) y de glúcidos (dextrosa y sacarosa). Además, observó que la supresión de la diuresis no se producía al inyectar estas soluciones en venas periféricas. También, en animales hipofisectomizados o inyectados por via intracarotidea con solución de urea hipertónica, la diuresis tampoco se suprimió. Basándose en lo anterior, Verney sugiere

la posible existencia de estructuras intracraneanas sensibles a cambios en la osmolaridad (osmorreceptores) así como la posible participación de la porción neural de la hipófisis en la regulación de la excreción renal de agua. Al mismo tiempo mostró que bastaba sólo un aumento de menos del 2% en la osmolaridad de la sangre que irriga al hipotálamo para que se provocara la antidiuresis en el perro. Por otro lado, el efecto y la latencia de respuesta de la antidiuresis provocada por las soluciones de Na^+ y sacarosa fueron más rápidas que cuando se utilizó glucosa sin embargo, este efecto fué nulo al usar urea. Esto le sugirió a Verney que las características de permeabilidad de la membrana de los osmorreceptores a ciertas sustancias fueran el factor determinante en la detección de los cambios en la osmolaridad. Las evidencias histológicas de pequeñas vesículas situadas en, o cerca de los núcleos supraópticos (NSO) en los animales inyectados con soluciones hipertónicas le hicieron sugerir que éstas podrían ser los osmorreceptores que responden a los cambios de la osmolaridad. Con experimentos adicionales observó que la secreción de HAD no sólo era activada a través de los cambios que se producen en la osmolaridad del LEC, sino que también era activada en respuesta a una variedad de situaciones inespecíficas como el dolor, el estrés o la pérdida del conocimiento. Adicionalmente, la secreción de la HAD era suprimida al incrementar la actividad simpática o al administrar inyecciones intravenosas de adrenalina o tyramina. De esta

forma, concluyó que el aumento de la osmolaridad era el factor primordial para producir la liberación de la HAD, pero que también esta liberación era desencadenada por otros factores como el estrés emocional, el aumento de la presión osmótica en la sangre arterial y por los cambios del volumen del LEC.

Para ubicar a los osmorreceptores, en experimentos ulteriores, Jewell y Verney (1957) decidieron restringir la zona de perfusión de sus soluciones al área hipotálamica exclusivamente. Así, ligaron los vasos colaterales de la arteria carótida interna en perros para distribuir las infusiones de soluciones hipertónicas a través de la arteria y observar que zona producía la secreción de HAD. Al perfundir el área del hipotálamo anterior cerca de NSO obtuvieron un aumento de HAD y una antidiuresis inmediata por lo que, con algunas reservas, propucieron que los osmorreceptores pudieran estar situados en o cerca de NSO formando parte de un sistema que regula la liberación de HAD. Las evidencias subsecuentes reportadas por Peck y Blass (1975) indican que, contrariamente a lo descrito sobre la ubicación de los osmorreceptores por Verney, en o cerca del NSO, éstos se localizan distribuidos en el área preóptica y porciones del hipotálamo anterior, pues al inyectar sacarosa disuelta en NaCl isotónico en dichas regiones y en el núcleo de la estria terminalis observaron una antidiuresis y presencia de HAD en el plasma, mientras que, cuando la inyectaron cerca de NSO no encontraron HAD en el plasma. Al inyectar la misma solución en el haz prosencefálico medial y

en el área hipotálamica anterior dorsal observaron manifestaciones de sed en los animales, así como ausencia de HAD en el plasma. Estos efectos les sugirieron que existían otros osmorreceptores contiguos que determinaban la manifestación de la sed, pero distintos a los que determinaban la secreción de HAD. Peck y Blass (1975) concluyeron que los osmorreceptores que están involucrados en la regulación de la producción de HAD y los que están involucrados en la regulación de la sed, aunque no son los mismos, se localizan ambos en el área preóptica, en el núcleo de la estria terminalis y en el área anterior del hipotálamo.

En resumen, al parecer, el balance acuoso es primariamente condicionado por la presión osmótica de los líquidos corporales, aunque también depende de un mecanismo de sed que asegura que las pérdidas inevitables de agua estén compensadas por su ingestión. Sin embargo, es importante considerar las evidencias que muestran que el SAD puede ser activado o suprimido por otros agentes o vías neurales que no modifican la presión osmótica, y que también modifican la regulación de la HAD.

Un factor que al parecer es importante considerar en la regulación de la HAD es la existencia de receptores de volumen. Los cambios que modifican el volumen de los líquidos corporales activan, en el sistema cardiovascular, a los receptores al estiramiento, produciendo una alteración en la excreción de HAD. En 1938 Rydin y Verney, al quitar pequeñas cantidades de sangre en perros conscientes, observaron una supresión de la diuresis acuosa que se asociaba con la caída

transitoria de la presión arterial media. Este efecto de la hemorragia fue confirmado por otros experimentos en donde además se demostró que existía una liberación de HAD proporcional a la pérdida de sangre. Después, Henry y colegas (1956) reportaron que al aumentar la distensión de la aurícula izquierda, se provocaron impulsos nerviosos que eran transmitidos a través de los nervios vagales aferentes y que al parecer suprimían la liberación de HAD porque se producía diuresis. Así pues, la diuresis inducida por cambios ortostáticos, por perfusiones con solución salina isotónica, isoconócica o por soluciones hiperanióticas de albumina en la posición supina, pudiera deberse a la inhibición del SAD como respuesta a la señal originada en los receptores de la aurícula izquierda. Por otro lado, una antidiuresis, se asoció a una hemorragia, a una insuficiencia circulatoria, a la oclusión del retorno venoso por obstrucción de la cava, o a una posición de sentado. Se interpretó este efecto como una excitación del SAD ante una disminución en la inhibición impuesta por los receptores de la aurícula izquierda. Smith (1957) con base en estas evidencias y otros reportes, descartó la existencia de los volorreceptores postulados hasta entonces, salvo los situados en el endocardio de la aurícula izquierda. Al parecer los impulsos de estos receptores pasan al hipotálamo por las vías aferentes del nervio vago (neumogástrico) y glosofaríngeo. Se postula que la secreción de HAD está bajo control inhibitor tónico de los barorreceptores, de modo que la hormona se libera cuando la presión arterial desciende y se

suprime cuando ésta sube. La secreción de HAD en respuesta a la hipoxia, a náuseas y a dolor también puede estar mediada por barorreceptores en el cayado aórtico y seno carotideo (Sklar y Shrier, 1983). En las últimas décadas se reporta que en el balance acuoso se debe considerar los dos estímulos fisiológicos que influyen notablemente sobre la liberación de la HAD, uno es el estado de tensión proporcional al volumen de la aurícula izquierda y el otro es el aumento de la osmolaridad plasmática. Los cambios en la osmolaridad, activan a los osmorreceptores hipotálamicos y el cambio del volumen activa a los receptores de volumen localizados en la pared de la aurícula izquierda así como a los barorreceptores aórticos y del seno carotideo (Mouw y Vander, 1970; Andersson, 1978; Robertson, 1977; 1983; Bennett y Whitehead, 1983).

Por lo antes expuesto Smith (1957) y Guevara (1974) describen que el sistema que regula al agua comprende sensores hipotálamicos que registran los cambios de la osmolaridad del líquido extracelular. La evaluación de un aumento de la osmolaridad por las estructuras neurales del sitio integrador (NSO y núcleo paraventricular (NPV)) determina la respuesta que consiste en un aumento de secreción de HAD y su liberación a nivel de la neurohipófisis por las arborizaciones axónicas del haz hipotálamo-hipofisiario. El flujo sanguíneo se encarga de llevar a los túbulos distales y colectores el mensaje humoral que determina el aumento de la permeabilidad en la membrana tubular y la reabsorción apropiada de agua osmóticamente

libre de la orina. El asa recurrente de este dispositivo homeostático está representada por la sangre que regresa al hipotálamo cada vez con menor osmolaridad produciendo una inhibición de la señal a los sensores hipotalámicos (figura 2). Si lo que registra el sensor es un descenso de la osmolaridad, la respuesta se invierte.

Sistema Antinatriurético.

En contraste con lo que ocurre con la regulación de agua, el mecanismo que regula el contenido sódico es prácticamente desconocido. Los mecanismos fisiológicos que mantienen constante al Na^+ corporal total al parecer regulan en forma directa el volumen del LEC, y en forma indirecta el volumen del líquido intracelular (LIC). En situaciones normales, la osmolaridad plasmática se mantiene en límites estrechos y la proporción de Na^+ en relación con el agua que existe en el LEC no cambia. Es bien conocido que en respuesta a un aumento en la $[\text{Na}^+]$ plasmático, los riñones reabsorben agua y aumentan, en consecuencia, el volumen del LEC. Por el contrario, en respuesta a una disminución en la $[\text{Na}^+]$ plasmática, los riñones eliminan agua, lo que hace disminuir el volumen del LEC. De esta manera, este volumen se controla en forma primaria regulando la reabsorción de Na^+ y en forma secundaria regulando la del agua. Los trastornos del volumen del LEC son en realidad alteraciones del equilibrio de Na^+ , mientras que los de la osmolaridad plasmática son alteraciones en el equilibrio del agua (Andersson, 1978; Guevara, 1984/85).

SISTEMA ANTIDIURETICO

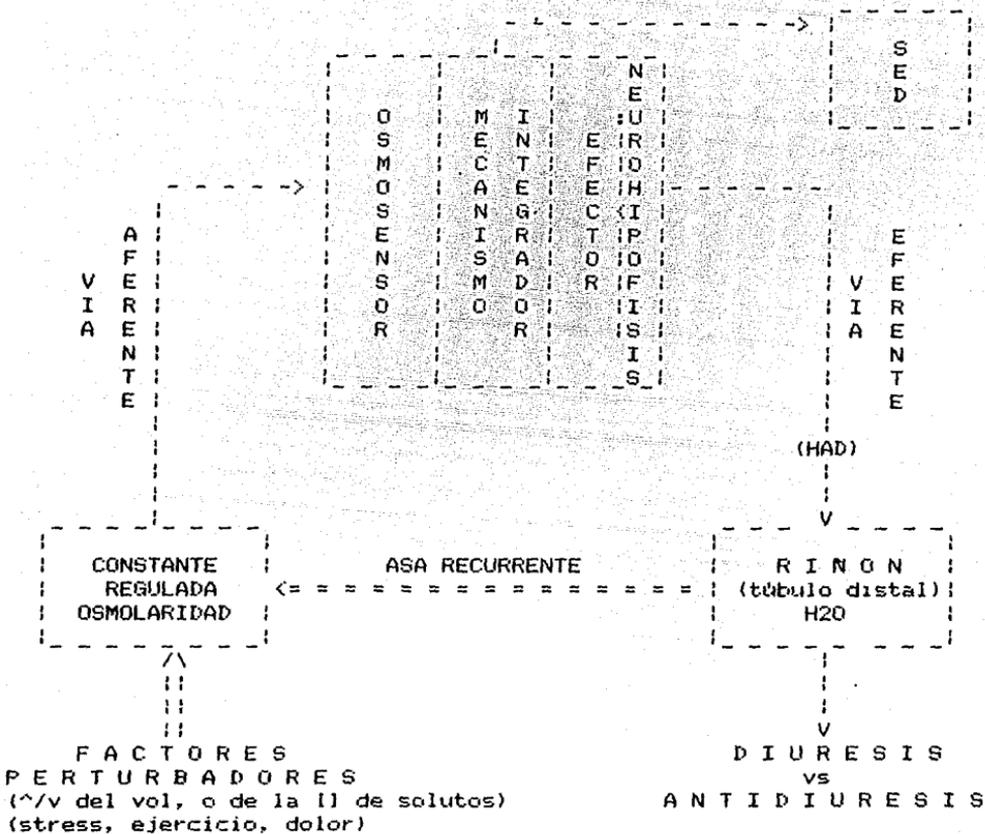


FIGURA 2: Diagrama esquemático del ciclo regulador cerrado para el agua. (Hecho de acuerdo al esquema del circuito regulador descrito por Guevara, 1988). Símbolos: \wedge/v . aumento o disminución; [] . concentración y HAD . hormona antidiurética.

Se sabe que hay diferentes factores que participan en la regulación de Na^+ , como son: los sensores de Na^+ descritos por Andersson y cols. (1969; 1978) y McKinley y cols. (1978; 1980), la abundante inervación aferente simpática del riñón que llega al SNC, las vías eferentes nerviosas u hormonales que actúan en los riñones y los mecanismos efectores renales que influyen en el riñón, para que conserve o excrete el Na^+ (Gottschaik, 1979; DiBona, 1982; 1986). Sin embargo, existen datos que demuestran contundentemente la existencia de sensores al Na^+ , que determinan específicamente el balance del Na^+ . Al inyectar en el ventrículo por vía intracerebral (VIC) o por vía vascular pequeñas cantidades de solución hipertónica de NaCl se causa, en animales saciados (no sedientos ni hidratados), una respuesta antidiurética y dipsogénica lo que no ocurre al inyectar una solución de sacáridos (Anderson y cols., 1967, 1975, 1978; Mouw y Vander, 1970; Dorn y Porter, 1970; McKinley y cols., 1978, 1980; Rundgren y cols., 1986). En contraste, Eriksson (1974) reporta que al inyectar soluciones iso ó hipertónicas de diversos sacáridos (fructosa o sacarosa) en el tercer ventrículo cerebral (III VC) se observa, en animales saciados, una diuresis acuosa inmediata sin cambios en su osmolaridad. Estos resultados le indicaron que en lugar de la osmolaridad, la composición iónica del líquido cefalorraquídeo (LCR) es más importante para la liberación de la HAD, además, le permitieron apoyar el concepto de receptor sensible al Na^+ cerca del III VC.

Otros estudios reportaron que, la inyección VIC de

soluciones hipertónicas altera de manera transitoria la osmolaridad del LCR así como la del líquido intersticial del tejido nervioso vecino, lo que sugiere que los efectos producidos son la respuesta de un mecanismo osmoceptor que responde específicamente al aumento en la $[Na^+]$ del LCR, pero además de alta jerarquía funcional, pues el efecto dipsogénico observado fue proporcional al aumento de la $[Na^+]$ que se produjo en el LCR (Andersson y cols., 1978; McKinley y cols., 1978; 1980).

De esta forma, los datos indicaron que el SNC participa en la regulación de Na^+ , aunque, la ubicación de los natriorreceptores aún no es muy clara, ya que existen datos que sugieren que estén localizados en diferentes sitios como: en el órgano subfornical (Thornborough y cols., 1973), en el hipotálamo posterior (Lichardus y cols., 1969), en el hipotálamo lateral (Silva-Netto y cols., 1980) así como en el núcleo preóptico medial (Ernsberger y cols., 1981; Keeler, 1972). Sin embargo, las regiones más probables por los efectos reportados, fueron los sitios periventriculares del III VC (Andersson y cols., 1969, 1972, 1978; McKynley y cols., 1980; 1982).

Debido a que las evidencias anteriores muestran la existencia de natriorreceptores y no su ubicación específica, se iniciaron una serie de investigaciones para localizarlos, así como para establecer el significado funcional de éstos. Hasta el momento se han reportado dos métodos para localizarlos. Uno es por medio de lesiones en la pared

anterior del III VC, que atenúan la excreción de Na^+ inmediatamente después de inyectar por VIC NaCl hipertónico en ratas (Bealer y Johnson, 1980). La estimulación osmótica producida en esta zona ha inducido la ingesta de agua en mamíferos diferentes (Andersson y cols., 1975; Bugy y Jhonson, 1977; McKinley y cols., 1980, 1982; Thrasher, 1982). El otro método, involucra perfusiones ventriculo-cisternales de soluciones que disminuyen la $[\text{Na}^+]$ en el LCR, limitadas a la región dorsal y posterior del III VC en perras, las cuales manifestaron el efecto de bebida y antinatriuresis (Pierce y Mouw, 1984). Recientemente Cox y cols., (1987) para especificar el área sensible a los cambios de la $[\text{Na}^+]$ en el III VC con el método Push-Pull perfundieron LCR artificial con 200 mM de Na^+ , en ovejas y observaron que la zona más sensible del III VC a los cambios en la $[\text{Na}^+]$ se sitúa cerca de la superficie ventricular en la parte dorsal anterior del III VC, ya que al estimular en esa zona, aumentó inmediatamente la excreción de Na^+ en comparación con la respuesta producida por las otras zonas perfundidas.

Dado que los datos indicaban la existencia de sensores hipotalámicos que respondían a los cambios en la $[\text{Na}^+]$ extracelular algunos autores sugirieron que estos eran los osmorreceptores que regulan la ingestión de agua (Epstein, y cols., 1984), mientras que Guevara y cols. (1987) sugirieron que estos sensores pudieran ser específicamente natriorreceptores y que al parecer formarían parte del SAN regulador del contenido corporal de Na^+ . Lo anterior, lo respaldan Guevara y cols. (1986, 1987), dado que al disminuir

la $[Na^+]$ con soluciones isotónicas de glucosa en el III VC sin modificar la osmolaridad del LCR, observaron una intensa antinatriuresis en el curso de la diuresis acuosa que alcanzó valores inferiores a los valores previos a la hidratación oral con agua destilada, no observando modificación alguna en la diuresis (Guevara y cols., 1986, 1987).

El hecho de que el aumento o la disminución de la $[Na^+]$ en el III VC se acompañe respectivamente de un aumento o franca disminución de la excreción renal de Na^+ (Cox y cols., 1987) apoya la hipótesis de la existencia del mecanismo homeostático del contenido corporal de Na^+ (el SAN) postulado por Smith (1957) y Guevara (1974).

Es así que se sugiere que el SAN cuente con sensores específicos (los natriorreceptores), vías intercaladas o internunciales aún no identificadas y quizá algún agente humoral que aumente la reabsorción de Na^+ por los túbulos renales (figura 3).

En contraste al postulado de la existencia de los natriorreceptores, la literatura reporta que el control de la excreción de Na^+ se lleva a través de mecanismos que incluyen al sistema renina-angiotensina (SRA), a la HAD y a los cambios en la hemodinámica renal (Knock, 1980). Aunque la función del SRA en la reabsorción de Na^+ es reconocida, no es muy evidente su acción sobre la conservación renal de Na^+ puesto que el sistema local yuxtglomerular del nefrón aparentemente funciona como un regulador de la filtración glomerular mediante la acción de la angiotensina II (ANG II)

producida in situ por la liberación de renina, ésta actúa sobre las células glomerulares de la corteza suprarrenal para liberar aldosterona la cual debe actuar en los túbulos renales para la reabsorción distal de Na⁺ (Watkins y cols., 1976; Brown y cols., 1979; Hall y cols., 1980). Existen ciertas evidencias que sugieren que la acción vascular intrarrenal de la ANG II es cuantitativamente más importante que la acción que lleva a cabo en la secreción de aldosterona para el balance diario de la regulación de Na⁺, así como su participación en la presión arterial (Hall, 1986). Al parecer, las concentraciones fisiológicas de ANG II aumentan la reabsorción tubular proximal de Na⁺ pero su efecto no se extiende hacia los demás segmentos del túbulo distal (Badder y cols., 1985; Brown y Douglas, 1983; Dickstein y cols., 1985; Hall y cols., 1984; Hall 1986; Harris y Navar, 1985). Farrell en 1959 ya había reportado que la participación del SRA para la secreción de aldosterona no significaba un factor primordial para la supervivencia, pues él observó que los animales adrenalectomizados podían sobrevivir tan sólo con cortisona. Esto y los antecedentes anteriores permiten hacer una reflexión sobre la función homeostática de la aldosterona y de su papel específico en la reabsorción del Na⁺. Por otra parte, el hecho de que la producción de ANG II y la liberación de aldosterona dependan de un proceso periférico en el que participen el hígado, el riñón, la corteza suprarrenal y las condiciones circulatorias obliga a dudar de su papel como regulador directo e inmediato en la conservación renal de Na⁺ y en consecuencia de la osmolaridad

del LEC. Estos hechos y las consideraciones de que la renina influye primordialmente sobre la presión sanguínea, de que para su liberación participen factores como la distensión de las arteriolas aferentes renales o la disminución del flujo sanguíneo, y de que su acción no es directa e inmediata, hicieron pensar que debería existir un mecanismo de control más rápido y directo. En otras palabras es válido sugerir que podría haber una participación del SNC en la regulación de la excreción de Na^+ por medio de el SAN (Smith, 1957; Guevara, 1984/85).

Si bien la postulación de Smith era solamente la conclusión lógica de un brillante análisis de la literatura, los datos anteriores y las drásticas antidiuresis y antinatriuresis observadas por Guevara (1974) en el edema persistente por la ingestión restringida de líquido en mujeres adultas y en la sobrehidratación por un 10 % de agua en perras, fundan una prueba objetiva de la existencia del SAN postulada por estos autores.

En el primer caso, descrito por Guevara (1974), existe una relación directa entre el periodo de restricción de agua y el edema (figura 4 A). En ese periodo, el volumen urinario y la excreción renal de sodio presentan un patrón oscilatorio paralelo, precediendo siempre la disminución del volumen a la disminución de Na^+ , acentuándose aún más al finalizar la fase experimental. Durante ese curso se presentaron periodos bruscos de natriuresis y diuresis, de intensidad decreciente, en los que la natriuresis, ahora precede al aumento del

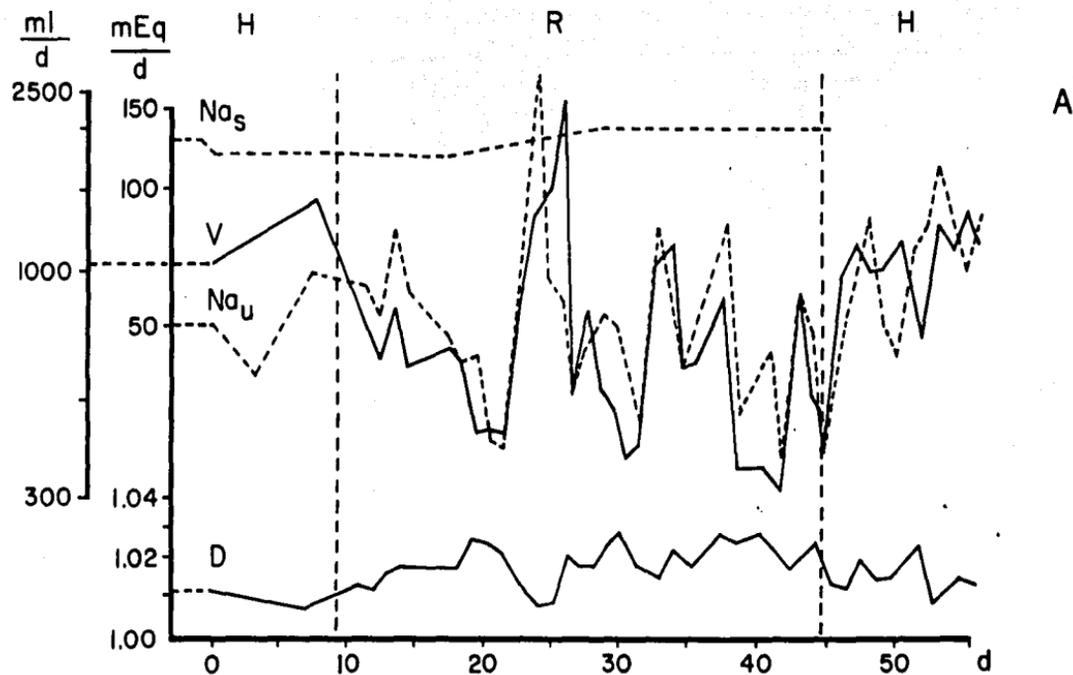


FIGURA 4: A) Efecto de la ingestión reducida de agua sobre: el Na^+ sérico (---), la excreción renal de agua (—), la excreción renal de Na^+ (- -) y la densidad urinaria (D).

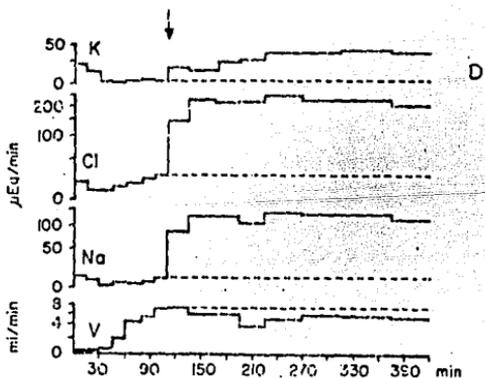
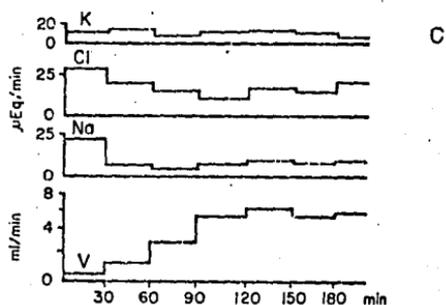
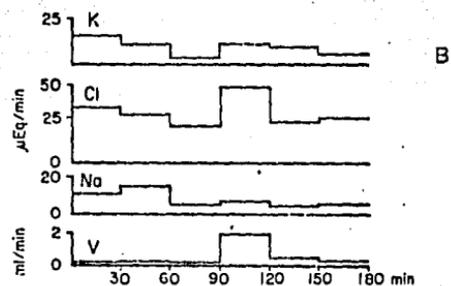


FIGURA 4: B) Respuesta inicial, antidiurética y antinatriurética en el perro, a la ingestión abundante de agua (10 % del p.c.).
 C) Disociación de las curvas de excreción de agua y Na^+ a partir de la quinta sesión de una sobrehidratación del 10 % del p.
 D) Respuesta antidiurética a la inhibición farmacológica de la conservación de Na^+ por el riñón, disociación de las curvas

volumen de orina. La concentración de Na^+ en el plasma sérico tuvo un aumento apreciable, en cambio el K^+ y el Cl^- no se modificaron. La disminución inmediata y sostenida de la excreción de agua y Na^+ al disminuir el líquido disponible le sugirió la activación concomitante de dos mecanismos que rigen la conservación de ambas sustancias y no solamente la del agua, como sería de esperarse. Por otra parte, los periodos drásticos de natriuresis y diuresis le revelaron una inhibición sucesiva y transitoria de los reguladores homeostáticos correspondientes y también el predominio funcional del SAN.

En el segundo caso, la antidiuresis paradójica y la antinatriuresis seguida a la administración intragástrica de una carga de agua equivalente al 10 % del peso corporal (sobrehidratación) en perras despiertas bien hidratadas (figura 4 B) indican una intensa activación del SAD. Como lo hace notar el autor, tal antidiuresis que traduce la intensa activación del SAD no puede ser causada por la brusca e intensa disminución de la osmolaridad plasmática del LEC, la cual debería provocar diuresis acuosa, sino que es causada necesariamente por la participación de otro mecanismo. Al repetir la prueba a partir de la quinta o sexta sesión con dos o tres días de intervalo, las curvas de excreción urinaria de agua y Na^+ se disocian y el animal recupera progresivamente su capacidad de producir diuresis acuosa aunque mantiene la respuesta antinatriurética (figura 4 C). La antidiuresis inicial parece ser secundaria y dependiente de la intensa activación de un mecanismo que como el

antidiurético, regule la excreción renal de Na^+ . En un animal que ya recuperó su respuesta normal de diuresis (figura 4 D), cuando el volumen urinario está ascendiendo claramente, la inyección de una sustancia natriurética (mercuriales, acetazolamida, politiazida, o furosemida) a la vez que aumenta la excreción urinaria de Na^+ en proporción a la potencia característica de cada droga, retiene el aumento o incluso determina una clara disminución del volumen urinario tanto más acentuada cuanto más intensa fue la natriuresis que provocó el fármaco. La prontitud de la natriuresis y antidiuresis en respuesta a la droga le hizo suponer al autor una respuesta central provocada por el suministro de información específica originada en el riñón mismo, debido a la inhibición drástica de la conservación de Na^+ .

Ambos casos, considerados en conjunto, le hicieron concluir la existencia del SAN, y además le permitieron postular que la activación de los sensores centrales (¿natriorreceptores?) podría ser capaz de invertir o bien de aumentar, en esas condiciones extremas, la respuesta del SAN, por lo que entonces ésta respuesta resulta paradójica. Además, esta acción muestra su elevada jerarquía funcional. Así pues, la respuesta antidiurética producida por un fármaco que actúa a nivel renal en el curso de la diuresis acuosa, también le sugirió la existencia de un mecanismo sensor ubicado en el riñón cuya información puede ser modificada en respuesta a la velocidad de conservación de Na^+ por el epitelio tubular del riñón.

PAPEL DE LOS NERVIOS RENALES EN LA REGULACION DE LA EXCRECION DE SODIO.

Generalidades.

El papel funcional de los nervios renales en la regulación de la excreción renal de Na^+ aún es incierto. Sin embargo, se han presentado diversas evidencias que sugieren la participación neural en la regulación de la excreción renal de Na^+ . En esta sección se presentan las evidencias neuroanatómicas y electrofisiológicas que pueden respaldar la postulación de Smith (1957) y Guevara (1974, 1984/85) sobre la existencia del SAN.

Neuroanatomía Renal

Es bien conocido que el riñón está abundantemente inervado por los nervios autonómicos del simpático toracolumbar, que llegan al riñón en gran parte a través de los ganglios paraaórticos. Los primeros trabajos histológicos de Pappenheim (1840), sobre la distribución de las fibras nerviosas intrarrenales reportan que el trayecto que siguen hacia el riñón lo hacen a través de la adventicia de las arterias renales, las cuales se distribuyen a lo largo de las ramificaciones intrarrenales.

Los estudios morfológicos recientes con microscopía electrónica, histoquímica específica y métodos fluorescentes han permitido apreciar que la rica inervación del riñón no es sólo eferente, sino también aferente; aún más, se ha podido distinguir con mayor exactitud la distribución, localización

y naturaleza de los neurotransmisores de los nervios renales.

Los estudios histológicos de ultraestructura de Mitchell (1950), De Muylder (1952) y Shvalev (1966) reportan, que el riñón recibe una rica inervación del simpático como cualquier otro órgano y que los nervios renales son haces de fibras nerviosas que se distribuyen tanto en las estructuras intrarrenales de la nefrona como en el parenquima renal. Sus fibras nerviosas eferentes derivan de los siguientes plexos: el celiaco, el torácico, el mesentérico superior e inferior y el hipogástrico superior; también derivan de los troncos nerviosos espláncnicos lumbares así como de los nervios intermesentéricos. En estudios de estimulación del cordón espinal (Takeuchi y cols., 1964) se reporta que estas fibras derivan también de los segmentos del cordón espinal de T5 a L3. De igual forma Norvell (1968) observó que todas estas fibras nerviosas y sus interconexiones constituyen al plexo renal, el cual se encuentra asociado al ganglio aorticorenal, que se localiza cerca de la unión de la aorta y la arteria renal. Con estos resultados sugirieron que la rica inervación renal podría estar contribuyendo a la regulación de la presión arterial así como en los mecanismos de excreción renal.

El papel fisiológico de la inervación intrínseca, aún no es muy claro, hasta el momento los estudios mediante técnicas electrofisiológicas, histológicas, de histoquímica específica y mediante técnicas fluorescentes combinadas con la microscopía electrónica sólo han permitido completar la

información de su distribución, localización, caracterización y especificidad neurotransmisora.

Con respecto a la caracterización y especificidad de posibles neurotransmisores, en las observaciones histológicas y de microscopia electrónica del riñón, Mitchell (1950) y De Muylder (1952), describen que la inervación intrínseca es tanto adrenérgica como colinérgica, que su distribución se hace a través de los vasos sanguíneos del riñón, pero que al parecer esta inervación no llega hasta las estructuras tubulares intrarrenales. Barajas (1978) al estudiar la morfología de esta con la técnica histoquímica de catecolaminas fluorescentes y la de autorradiografía demostraron que, en la rata y en el mono, existía inervación adrenérgica en las estructuras tubulares intrarrenales. Mediante la histoquímica con tiocolina y la microscopia electrónica observaron que las terminales nerviosas intrarrenales contenían acetilcolinesterasa, lo que les hizo postular la existencia de inervación colinérgica intrarrenal. Otra característica que encontraron en los haces nerviosos adrenérgicos es que son más prominentes que los colinérgicos y además que están situados junto a las arteriolas de la corteza renal, entre el espacio de las arteriolas glomerulares aferente y eferente, rodeando a los túbulos proximal y distal. En la observación histológica encontraron que en el contorno de ambos túbulos, proximal y distal, la inervación provenía de diferentes fibras y que la distribución era similar tanto en la rata como en el mono, aunque en densidad, la de la rata fué más pequeña y delgada.

En trabajos subsecuentes Barajas y Wang (1979), suministraron norepinefrina tritiada y mediante autorradiografía de microscopia de luz y electrónica, la observaron acumulada en varicosidades axonales, las cuales se encuentran en contacto directo con arteriolas aferentes y eferentes, con células granulares yuxtglomerulares y con los túbulos proximal y distal. DiBona (1977), con la misma técnica observó que, las células del epitelio tubular proximal y distal del perro, eran directamente inervadas por terminales nerviosas adrenérgicas que contenían catecolaminas. Zimmerman (1972) ya había reportado, que utilizando sólo la microscopia de luz, observó en un feto humano de 13-16 semanas que el túbulo contorneado distal también era inervado y que sus terminales nerviosas contenían pequeñas vesículas de núcleo denso, las cuales, se encontraron en contacto directo con la membrana basal de las células epiteliales del túbulo distal.

En los últimos años Barajas y cols. (1984) reportaron en un estudio morfológico cuantitativo, que al usar norepinefrina tritiada, autorradiografía y métodos ultraestructurales en diferentes porciones de la nefrona cortical de rata, encontraron que en la porción del túbulo proximal existía una gran acumulación de granos autorradiográficos revestidos en el intersticio y en contacto con los capilares, y que en cambio, en el asa gruesa ascendente de Henle encontraron que los granos autorradiográficos se acumularon en el contorno tubular,

estableciendo un alto número de contactos con la arteriola eferente. En el tubulo contornado distal observaron granulos en una desproporción alta, mientras que las terminales nerviosas estaban en contacto con la arteriola aferente. Con estos datos sugirieron que todas las porciones del tubulo cortical se encuentran bajo una gran influencia neural.

Por otro lado, las observaciones histológicas de la inervación intrínseca señalan que el nervio renal de los mamíferos contiene numerosas fibras nerviosas amielínicas. Zimmerman (1975) y Barajas y Wang (1978) con la microscopía electrónica y de luz observaron que el riñón de la rata contenía fibras nerviosas mielínicas y amielínicas en tres áreas del riñón: en la región corticomedular, en el tejido periarterial así como en el tejido subepitelial de los cálices. También refieren que predominan más las fibras amielínicas que las mielínicas y que el diámetro de 17 axones mielínicos fué en promedio de 2.8 μm y el diámetro de 180 axones amielínicos fué alrededor de 0.5 μm . Niijima (1975) reportó que el tronco nervioso renal del conejo posee una gran cantidad de fibras amielínicas y una pequeña cantidad de fibras mielínicas. Estudios fisiológicos en paralelo le hicieron sugerir que algunas de las fibras amielínicas son aferencias de terminaciones nerviosas encontradas en el parenquima o pelvis renal.

En suma, los estudios morfológicos sugieren que el riñón de los mamíferos recibe una gran inervación adrenérgica predominante que involucra a los vasos, a los túbulos y al aparato yuxtaglomerular del riñón. Pero además sugieren que

la inervación intrarrenal puede contar con aferencias amielínicas que transmitan información proveniente del riñón.

Electrofisiología de aferencias renales.

La función de la información sensorial del riñón hacia el SNC todavía es investigada. Diversos autores reportan la existencia de descarga aferente en las fibras del nervio renal por la activación de terminaciones nerviosas de receptores en el riñón de especies diferentes (Astrom y Crafoord, 1967, 1968; Ueda y cols., 1967; Beacham y Kunze, 1969; Uchida y cols., 1971; Niijima, 1971, 1972, 1975; Kady, 1974; Calaresu y cols., 1978; Recordati y cols., 1978, 1980, 1982; Francisco y cols., 1980).

Las descargas aferentes de los nervios renales han sido estudiadas en registros de haces nerviosos o de fibra nerviosa única en preparaciones aisladas, *in vitro* e *in vivo*. Algunas terminaciones nerviosas receptoras, al parecer son sensibles a cambios en la presión intrarrenal producidos por alteraciones de la presión arterial renal, por la oclusión venosa renal, por la oclusión ureteral, o por la compresión del riñón, siendo caracterizadas como mecanorreceptores (Niijima, 1971, 1972, 1975). En otros estudios se reportan otras dos poblaciones de aferencias caracterizadas como quimiorreceptores renales R1 y R2 (Recordati y cols., 1978, 1980, 1980 a, 1981). Los quimiorreceptores renales R1 se caracterizaron electrofisiológicamente por mostrar una descarga silenciosa en condiciones control la cual no

respondió al flujo bajo de orina perfundida retrogradamente por el uréter, sin embargo, respondieron ante una isquemia renal producida por pinzamiento de la arteria renal, por hipotensión sistémica, por pinzamiento de la vena renal así como por la hipotensión que acompaña a la asfixia sistémica (Recordati y cols., 1978). Los quimiorreceptores R2 mostraron actividad en reposo, cuya descarga se modificó ante cambios en la concentración iónica de la orina cuando ésta fue introducida a la pelvis renal por perfusión retrograda del uréter a presiones menores de 2 mmHg. También respondieron ante la isquemia renal producida por el pinzamiento de la arteria renal y además ante el flujo bajo de orina dentro de la pelvis renal. Estas respuestas fueron independientes a los cambios en la presión intrarrenal o pélvica. Lo anterior les sugirió a los autores que la respuesta era dependiente de la composición química del líquido perfundido y que los nervios renales contienen fibras aferentes de naturaleza sensorial diferente que conducen impulsos de receptores renales localizados en diferentes sitios del riñón (Recordati y cols., 1980, 1980 a, 1981).

Ciriello y Calaresu (1980) han estudiado las proyecciones centrales de las fibras aferentes del nervio renal en el gato y observaron que ante la estimulación eléctrica de los nervios renales aferentes se produce una actividad eléctrica en el núcleo preóptico lateral, en el hipotálamo lateral y en el NPV. Estos resultados demuestran que los nervios renales aferentes proveen información a estructuras hipotalámicas que se conoce. están involucradas

en la regulación de la presión arterial y en el balance de los líquidos corporales. También Knuefffer y cols. (1980, 1985) reportaron proyecciones centrales similares en la rata al estimular las fibras aferentes renales. En suma estos datos indican que la información renal alcanza regiones hipotalámicas involucradas en la regulación cardiovascular y en el balance corporal de agua y sodio.

Influencia de los nervios renales en la regulación de la excreción de sodio.

Con los estudios morfológicos sobre la inervación renal se sugirió la posible participación de los nervios renales en el control directo de la reabsorción tubular de Na⁺.

La literatura reporta que existe un balance funcional entre los dos riñones lo que sugiere la existencia de reflejos renorreales neurales los cuales pueden controlar las funciones renales. McFarlane (1970) fué uno de los que iniciaron esta postulación, pues al inyectar acetilcolina dentro de uno de los riñones de perros anestesiados, observó que se producía una vasoconstricción mediada neuralmente en el riñón contralateral no inyectado. Actualmente se acepta la existencia de reflejos renorreales identificados por técnicas electrofisiológicas pues, se ha activado selectivamente a los mecanorreceptores o quimiorreceptores y se ha observado que se produce una actividad nerviosa en los nervios eferentes renales contralaterales que se asocia con aumento en la excreción de sodio y agua del riñón

contralateral, sugiriendo, además de la existencia de estos reflejos, una acción inhibitoria propia del riñón (Calaresu y cols., 1978; Recordati y cols., 1982; Rogenes, 1982; Kopp y cols., 1984, 1985). Por otro lado DiBona y Sawin (1982) refieren que la denervación renal bilateral atenúa la respuesta natriurética ante la expansión de volumen con solución salina isotónica en ratas con una dieta baja en sodio y en cambio en ratas con dieta normal de sodio la respuesta es diferente, no habiendo una modificación notable en la respuesta natriurética. Estos resultados sugieren que, en efecto, los nervios renales juegan un papel importante en la excreción renal de Na^+ .

Se ha observado también que la denervación renal con expansión del volumen del LEC produce una diuresis y natriuresis en el riñón denervado y simultáneamente disminuye la excreción de agua y Na^+ en el riñón inervado de un mismo animal (DiBona, 1982, 1986). Por otro lado también ha observado DiBona (1982) que la estimulación del nervio renal a baja frecuencia tiene un efecto directo sobre la reabsorción de NaCl en el asa de Henle. Así pues, se ha considerado en los últimos años, que los reflejos renorrenales son respuestas originadas en el riñón en respuesta a una estimulación producida en el riñón ipsilateral o contralateral y que éstos pueden estar mediados por mecanismos neurohumorales (Koop y cols., 1987).

FARMACOS QUE AFECTAN LA EXCRECIÓN RENAL DE SODIO

El importante papel homeostático del riñón en el mantenimiento del volumen y la composición de los líquidos corporales ya ha sido planteado anteriormente. El conocimiento de los mecanismos renales es importante para evaluar el efecto que producen las drogas sobre la excreción renal de agua y sodio, especialmente si tenemos en cuenta que la alteración de la función renal puede afectar marcadamente el índice de excreción y por lo tanto la duración de la acción del fármaco así como el grado de toxicidad.

Consideraciones fisiológicas en la reabsorción de sodio.

Hay evidencias que demuestran que la cantidad de Na^+ excretada se ajusta igualando la cantidad ingerida, conservandose así, el balance de Na^+ en el LEC. Así, la excreción urinaria puede ser menor a 1 meq/día con una dieta baja en Na^+ , y hasta de 400 meq/día o más cuando la ingestión de Na^+ es alta. Las modificaciones que sufre la excreción de Na^+ dependen de los cambios producidos en la cantidad de Na^+ filtrado y por la cantidad de éste reabsorbido en los túbulos. Los factores que afectan la tasa de filtración glomerular (TFG) incluyen cambios en el flujo sanguíneo renal, cambios en la presión hidrostática del capilar glomerular o de la cápsula de Bowman, cambios en la concentración de las proteínas plasmáticas, el incremento de permeabilidad del filtro glomerular y la disminución en el área total del lecho capilar. Entre los factores que influyen

sobre la reabsorción tubular de Na^+ se reconocen: la presión oncótica e hidrostática en los capilares peritubulares, el nivel de aldosterona circulante así como la de otras hormonas corticosuprarrenales, la concentración en la sangre del péptido natriurético auricular y la tasa de secreción de H^+ y K^+ (Wright, 1982, 1984).

A medida que el filtrado glomerular se desplaza por la nefrona (a lo largo del túbulo proximal, el asa de Henle, el túbulo distal y el conducto colector), su volumen y composición va cambiando debido a que se lleva a cabo la reabsorción o secreción de sustancias a través del epitelio tubular (figura 5). De esta manera, el riñón logra regular la composición del LEC al reabsorber del 100 % del volumen filtrado el 98 % de éste. Aproximadamente se reabsorbe en el túbulo proximal el 70 % del filtrado glomerular que incluye Na^+ , Ca^{++} , Cl^- , HCO_3^- , HPO_4^- , Mg^{++} , glucosa y aminoácidos. En los demás segmentos donde existe reabsorción de Na^+ se continúa disminuyendo el volumen y alterando la composición del LEC. Así, en la rama gruesa ascendente del asa de Henle se reabsorbe un 20 % del Na^+ filtrado. El 10 % restante del Na^+ filtrado pasa al túbulo distal, el cual está constituido por el túbulo contorneado donde se reabsorbe sólo el 5 % y por el túbulo colector donde se reabsorbe un 4.5 %, el resto del filtrado aparece en la orina final (Dirks y Sutton, 1986).

Las sales de Na^+ constituyen la mayor fracción de solutos filtrados y son reabsorbidas en casi todos los

segmentos del nefrón. El movimiento del Na^+ a través del epitelio tubular ocurre en gran parte a través de las células epiteliales, la vía transcelular. Además, una parte de la reabsorción de Na^+ ocurre en los espacios entre células, la vía paracelular. El transporte transcelular puede dividirse en dos procesos: el movimiento de Na^+ desde el líquido tubular hacia las células tubulares y la salida de Na^+ desde las células hacia el líquido peritubular o extracelular. El último proceso involucra el transporte activo de Na^+ contra un gradiente electroquímico. Este gradiente es el resultado del potencial intracelular negativo de las células tubulares y la concentración relativamente baja de Na^+ en el líquido intracelular. Este mecanismo de transporte es esencialmente similar en todos los segmentos de la nefrona. La energía para la salida activa deriva de la hidrólisis de ATP y la bomba es una Na^+ , K^+ -ATPasa. Esta enzima se ubica en la membrana laterobasal de las células epiteliales y a menudo se denomina "bomba de sodio" (Cemerikic y cols., 1982; Cardinal y cols., 1984; Lang y cols., 1986). En contraste con el mecanismo único para la salida de sodio, hasta ahora se han identificado cuatro mecanismos principales para la entrada de Na^+ : la entrada de Na^+ per se por un gradiente electroquímico favorable, la entrada de Na^+ junto con la entrada de un soluto orgánico, la entrada de Na^+ a cambio de un catión (por ejemplo, H^+) que se mueve en dirección opuesta y la entrada de Na^+ junto con cloro (Schlatter y cols., 1983). Los datos indican que por lo menos, en lo que se refiere a la regulación de la excreción de Na^+ , el control de la

reabsorción tubular es más importante que el de la TFG (aun cuando se conoce que la reabsorción depende de la TFG).

Acción farmacológica de la furosemida y de la hidrocortisona.

Para determinar la magnitud de acción de un fármaco sobre la excreción de Na^+ , se deben considerar tres factores primordiales: el sitio de acción del fármaco en el riñón, la composición del LEC en el organismo y la cinética de reacción entre el medicamento y el receptor (Dirks y Sutton, 1986).

Dentro de la práctica médica, un fármaco considerado como un potente diurético (natriurético) es la furosemida, cuya acción es rápida y reversible. La brevedad de su acción esta determinada en gran parte por factores farmacocinéticos, ya que la intensidad de diuresis que produce el fármaco pone en juego mecanismos compensatorios que modifican su acción inicial (Pnina y cols., 1987; Greger y Schlatter, 1983). La furosemida es considerada como un diurético de asa, debido a que su sitio de acción es el asa ascendente gruesa de Henle (AAGH) del túbulo distal, donde inhibe el sistema de cotransporte activo de $\text{Na}^+_{2\text{Cl}^-}_{\text{K}^+}$ a nivel de la membrana luminal (Greger, 1981; Burg, 1973). Otra característica de la furosemida es que dentro del riñón es secretada al interior del túbulo en el segmento proximal (figura 6).

En los experimentos de microperfusión de túbulos aislados de riñón y en animales integros anestesiados se ha mostrado que al aplicar la furosemida, se presenta una inhibición del sistema de cotransporte $\text{Na}^+_{2\text{Cl}^-}_{\text{K}^+}$ en la membrana luminal del AAGH, ya que, se observó tanto un aporte

mayor de Na⁺, Cl⁻, K⁺ a la parte inicial del túbulo distal así como un aumento en la excreción renal (Phina y cols., 1987). Estos hechos sobre la furosemida, apoyan su uso en la práctica médica como fármaco natriurético, inhibidor de la reabsorción de Na⁺ tubular.

Por otro lado, en los experimentos de valoración de la hemodinámica renal con métodos de microperfusión asociados con técnicas de depuración ante la administración de furosemida, se reporta que la dosis y la velocidad de administración del fármaco son determinantes en el aumento del flujo sanguíneo renal sin incremento de la TFG, especialmente luego de administrar la furosemida por la vena. Tal cambio en la hemodinámica renal redujo la reabsorción de líquidos y electrólitos en el túbulo proximal produciendo un aumento en la respuesta diurética lo que a su vez ocasionó un aumento en la presión intraluminal y una reducción transitoria del índice de filtración (Whelton, 1981; Reineck y Stein, 1981; Mudge y cols., 1975). Otros estudios al respecto indican que la furosemida además de producir el aumento del flujo sanguíneo renal, también incrementa la secreción de prostaglandinas y de renina, provocando así un aumento de la excreción de agua y Na⁺ (Chrysant y cols., 1981). Los hechos anteriores permiten concluir que la furosemida es un fármaco potente que garantiza un efecto natriurético eficaz.

En contraste con el efecto natriurético de la furosemida que se ejerce en la AAGH, la hidrocortisona (cortisol) es un antinatriurético que ejerce su acción en el túbulo colector

distal, ya que facilita la reabsorción de Na^+ . La hidrocortisona es un esteroide aislado que posee una potente actividad glucocorticoide, cuya acción es vital en el metabolismo de los mamíferos. Los análogos sintéticos de este fármaco, como los succinatos o los 21-fosfatos son hidrosolubles y tienen una diferencia estructural química mínima, lo que les permite ejercer una acción farmacológica similar a la de un glucocorticoide suprarrenal, en el túbulo contorneado distal (figura 7), (Goth, 1977; Goodman y Gilman, 1986).

En la literatura se refiere que la acción predominante de los glucocorticoides (hidrocortisona y cortisona) es la que ejercen sobre el metabolismo orgánico, en contraste con los mineralocorticoides (aldosterona y desoxicorticoesterona) cuya función predominante es la de conservar el Na^+ del organismo (Schwartz y Burg, 1978; Goth, 1977; Laguna y Piña, 1979).

Poco se sabe de la acción de la hidrocortisona sobre el mecanismo de acción para la reabsorción tubular de Na^+ , sin embargo, la literatura farmacológica reporta que la hidrocortisona tiene una actividad de 1 en la retención de Na^+ en comparación con la aldosterona cuya actividad es de 50-1000 (Goodman y Gilman, 1986; Goth, 1979). Por lo anterior es comunmente aceptado que la hormona que participa en la regulación de la excreción de Na^+ en el organismo es la aldosterona (Stephenson y cols., 1984). Sin embargo, se refiere en la práctica médica que los glucocorticoides puedan influir en la distribución de agua y de electrólitos entre el

ACCION TUBULAR DE LA HIDROCORTISONA

TUBULO DISTAL

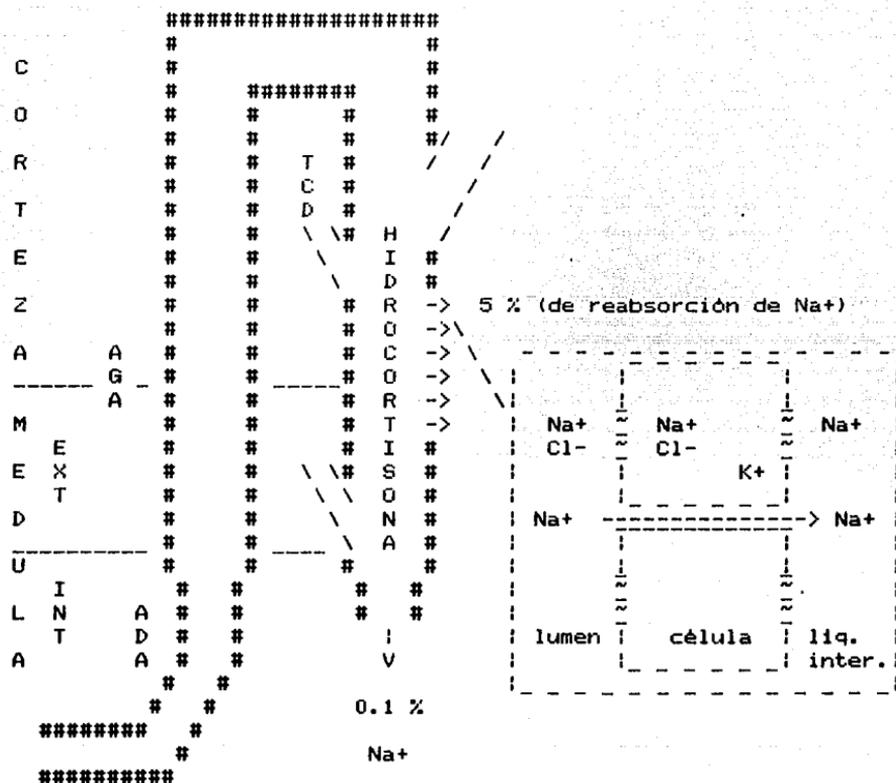


FIGURA 7. Ilustración esquemática del sitio de acción de un antinatriurético. Aunque el sitio de acción específico es desconocido, al parecer actúa en el túbulo contorneado distal.

AGA . Asa gruesa ascendente de Henle
 ADA . Asa delgada ascendente de Henle
 TDC . Túbulo contorneado distal
 ~ . transporte activo
 liq. inter.: liquido intersticial

líquido intracelular y el extracelular así como en el recambio renal de electrolitos, pues se ha observado que la administración de hidrocortisona en humanos y animales produce una eliminación de K^+ y un aumento de la retención de Na^+ en el LEC que causa una salida de agua de las células hacia el LEC produciendo edema general del organismo, hipopotasemia y alcalosis. En cambio, cuando se administra la aldosterona, a pesar de tener una capacidad considerable de retención de Na^+ , no se observa habitualmente la producción de edema. Ahora bien, ante la administración de desoxicorticoesterona siempre se observa una tendencia a retener Na^+ , pero se observa también, que este efecto se evita cuando se administra simultáneamente cantidades adecuadas de hidrocortisona (Goth, 1977). Por lo anterior, se ha sugerido que la hidrocortisona tiende a regular el equilibrio de Na^+ , ya que en determinadas ocasiones retiene y, en otras, elimina al Na^+ y al agua, actuando así como un modulador homeostático de los líquidos.

Lo anterior puede ser apoyado con las evidencias recientes de estudios con RU26988, un glucocorticoide sintético que no se liga con los receptores a la aldosterona. En estas pruebas se utilizaron riñones de ratas adrenalectomizadas en los que, al administrar el RU26988, produjo un aumento de la reabsorción de Na^+ así como una diferencia (al doble) del potencial transmural, lo que sugirió la existencia de glucocorticoides binder IB en la corteza del riñón que favorecen el transporte de Na^+ y que ésta respuesta fenotípica está mediada por los

glucocorticoides (Eisen y cols., 1986; Hubbard y Kalim, 1982). Así pues, aunque tradicionalmente se caracteriza a la hidrocortisona como un glucocorticoide que no tiene efecto sobre la reabsorción de Na^+ en el riñón, lo anterior indica que este esteroide es importante en la regulación del transporte de Na^+ en el riñón.

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Los efectos de antidiuresis e hiperdipsia ante los cambios de la $[Na^+]$ en el LCR del III VC (Olsson, 1972, 1973; Erikson, 1974; Dorn, 1969; Andersson y cols., 1977, 1978; McKinley y cols., 1980, 1982; Rundgren y cols., 1986), así como el efecto de la antinatriuresis ante el abatimiento de la $[Na^+]$ en el LCR III VC (Guevara, 1986; 1987) sirvieron de base para sugerir la existencia de un mecanismo neurohumoral, que participa en el control del contenido corporal de Na^+ (sistema antinatriurético, SAN) regulando su excreción renal (Smith, 1957; Guevara, 1974, 1984/85). Este sistema, al parecer, cuenta con natriorreceptores en la vecindad del III VC que registran $[Na^+]$ en el líquido intersticial que los baña. La información de estos natriorreceptores al sistema integrador del SAN permite que la regulación del contenido corporal del ión se lleve a cabo. La acción de los natriorreceptores, se manifiesta claramente en la respuesta antinatriurética producida por el abatimiento de la $[Na^+]$ en el LCR del III VC. La elevada categoría funcional del SAN sobre la ingestión de agua y la regulación en la excreción del volumen urinario se ha manifestado al producir natriuresis, hiperdipsia y antidiuresis marcada ante el aumento de la $[Na^+]$ en el LCR (McKinley y cols., 1982; Rudgren y cols., 1986).

La acción del SAN en el control de la excreción renal de Na^+ se ha manifestado en la drástica antinatriuresis y antidiuresis que sigue a la sobrehidratación y en el efecto

antidiurético de la curva de diuresis, en respuesta a la inyección venosa de sustancias natriuréticas (furosemida, acetazolamida, etc.) durante el curso de la diuresis acuosa en la sobrehidratación repetida en perros, descrito por Guevara (1974). Ya que la acción de estos diuréticos se lleva a cabo a nivel renal esta última respuesta indicó también, la posible participación de un mecanismo sensor ubicado en el riñon cuya información se modifica en respuesta a la velocidad de la conservación de Na^+ por el epitelio tubular.

Varios trabajos reportan registros de potenciales de acción de nervios aferentes renales originados por la activación de terminaciones nerviosas sensoriales receptoras en el riñon (Pines, 1960; Ueda y cols., 1967, 1968, 1971; Astroom y Crafoord, 1967, 1968; Beacham y cols., 1969; Kady, 1974; Calaresu y cols., 1978; Francisco y cols., 1980).

Otras evidencias establecen que el riñon de los mamíferos contiene receptores sensoriales: mecanorreceptores y quimiorreceptores. Nijima (1971; 1972; 1975) demostró la existencia de mecanorreceptores al registrar fibras aferentes que se activaron al producir cambios en la presión intrarrenal provocados por alteraciones en la presión arterial, por la oclusión de la vena renal, por la oclusión ureteral o por la compresión del riñon. Recordati y cols. (1978, 1980) demostraron que existen dos grupos de quimiorreceptores renales, los R1 y los R2. Las fibras procedentes de los R1 no mostraron descarga en reposo, sin

embargo, se activaron al provocar isquemia intrarrenal por oclusión de la arteria o vena renal, por hipotensión sistémica o por asfixia sistémica. Las fibras provenientes de los R2 se activaron al producir cambios en el medio químico del intersticio renal ocasionada por la perfusión retrógrada del uréter con soluciones de orina no diurética o diurética. Estos datos sugirieron la existencia de receptores distribuidos en diferentes estructuras del riñón, puesto que una variedad de maniobras provocaron su activación.

Adicionalmente a estos registros, diversos autores enfatizan que la información de las fibras aferentes del riñón se transmite al SNC, puesto que se ha demostrado que al estimular las fibras aferentes del nervio renal se observaron modificaciones en la actividad neuronal del hipotálamo, principalmente en el NSO y NPV. Posiblemente la vía participante está contenida en el cordón espinal, involucrándose regiones medulares autonómicas (Ciriello y cols., 1980, 1982, 1985; Simon y Schramm, 1984; Zimmermann, 1975).

Se ha observado también que al producir expansión del volumen del LEC en un animal con denervación renal se origina una diuresis y una natriuresis, asociadas a una disminución de la excreción de agua y Na⁺ en el riñón inervado (DiBona, 1982; 1986). Aunque el significado funcional de la acción de los nervios renales sobre la reabsorción de Na⁺ aún no es clara, existen evidencias que muestran que terminaciones nerviosas se localizan en diferentes porciones del túbulo proximal y distal donde se efectúa la reabsorción del Na⁺

(Barajas, 1973; 1978; 1981; 1983; 1984), y además, que la estimulación del nervio renal a baja frecuencia tiene un efecto directo sobre la absorción de NaCl en el asa de Henle (DiBona, 1982).

Por otro lado, está bien establecido que la furosemina es un potente natriurético que impide la reabsorción de NaCl a nivel de la membrana luminal del asa gruesa ascendente de Henle, debido a que inhibe el transporte activo de Cl⁻, el cual constituye la fuerza conductora para la reabsorción de Na⁺ en esta porción tubular (Burg y cols., 1973; Greger, 1981; 1983; Dirksz y Sutton, 1986). En contraste, la hidrocortisona induce la retención de sodio a nivel del túbulo contorneado distal (Goodman y cols., 1986). Es muy claro que la acción de estos fármacos produce cambios considerables en la reabsorción tubular de Na⁺ específicamente en el asa gruesa ascendente de Henle y en el túbulo contorneado distal.

Hipótesis y Objetivos.

De los estudios anteriores, se puede sugerir la posible existencia de sensores ubicados en el riñón cuya actividad se modifique en respuesta a la magnitud de la conservación de Na⁺ por el epitelio tubular. Así, la hipótesis se planteó en el sentido de que si existieran natriorreceptores renales, entonces su actividad y la de las fibras asociadas a ellos, podrían ser modificadas por cambios en el transporte de Na⁺ a través del epitelio tubular. Así pues, se decidió registrar los potenciales nerviosos de las fibras

aferentes del nervio renal en un riñón de rata deferentado ante la perfusión de un fármaco inhibidor del transporte de Na^+ en el epitelio tubular (furosemda) así como de un fármaco facilitador de este transporte (hidrocortisona).

Los objetivos a alcanzar con el presente estudio son:

- Registrar la actividad multiunitaria del riñón deferentado.
- Precisar si además de las fibras aferentes que responden a la anoxia y a los cambios de presión, hay fibras que respondan específicamente a los cambios en el transporte tubular de Na^+ originados por los fármacos.
- Identificar la variación de la frecuencia de los impulsos registrados ante dichos fármacos mediante un análisis de histogramas de frecuencia.
- Verificar si los cambios de la actividad multiunitaria coinciden con los cambios en la excreción urinaria de Na^+ .

MÉTODOS.

Con el propósito de obtener evidencias que indicaran la posible existencia de receptores renales cuya actividad se modifica en respuesta a los cambios de la conservación del ión sodio por el epitelio tubular renal, se determinaron los efectos de la administración de hidrocortisona (estimulante de la reabsorción tubular de sodio) y de furosemina (inhibidor de la reabsorción tubular) sobre la actividad aferente del nervio renal (AANR) del riñón aislado de rata, mediante el registro multiunitario. Al mismo tiempo que se registró la AANR se colectó la orina, con el propósito de relacionar los cambios de la AANR con la excreción urinaria del Na^+ .

El riñón aislado es una preparación que permite excluir del registro electrofisiológico a los impulsos eferentes conducidos por los nervios renales hacia el riñón, sin perturbar la actividad aferente originada en los sensores renales cualesquiera que ellos sean. Al mismo tiempo, al quitar la circulación sanguínea se evita toda influencia humoral del SNC sobre el riñón, además, es posible también, mantenerlo a una presión de perfusión constante para suprimir la respuesta de mecanorreceptores renales (Niijima, 1971). La perfusión del riñón aislado a través de la arteria renal requiere una presión alrededor de 120 cm de agua (Nishitsuji-uwu y cols., 1967). La preparación se mantuvo en hipotermia para lograr estabilizar la función del riñón porque así se atenua la actividad enzimática y metabólica.

El registro de actividad multiunitaria puede proporcionar información sobre la actividad global, desencadenada en las fibras aferentes, como resultado de la estimulación de las estructuras responsivas a los cambios químicos del medio ambiente intrarrenal (Recordati y cols. 1980, 1981, 1982; Rogenes, 1981).

PREPARACION BIOLOGICA.

Se utilizaron 42 ratas Wistar macho de 300-400 g de peso, los que permanecieron en ayuno 24 hrs previas al experimento con agua ad libitum para asegurar la activación del sistema antinatriurético, el cual se manifiesta en las pruebas de sobrehidratación, y aún más con una dieta baja en NaCl (Guevara, 1984). Los animales fueron anestesiados con hidrato de cloral a una dosis de 400 mg/Kg por vía intraperitoneal. A través de una laparotomía media lateral se realizó una evisceración para exponer el riñón izquierdo y su paquete vasculo-nervioso, sin extraerlos de la cavidad retroperitoneal, limpiando por último, mediante disección cortante y roma la grasa perirrenal y el tejido conjuntivo perivascular. Se aisló el riñón izquierdo en todos los experimentos, debido a que la longitud de su tronco nervioso es mayor que la del derecho, además de que es más accesible para su registro (Niijima, 1971). En una segunda etapa, para evitar influencias hormonales se procedió a ligar los vasos arteriales y venosos con seda anacap (5-0) en el siguiente orden: arteria mesentérica inferior y superior, tronco

adrenal, arteria celiaca, paquete vasculonervioso renal derecho y vena cava superior justamente a nivel de la cara inferior del higado. Para excluirlo de la circulación, sin producir isquemia, se abordó a nivel de la bifurcación de la arteria celiaca y se insertó un "punzocat" calibre 22 dentro de la aorta abdominal con la punta de éste en dirección al flujo. En seguida se retiró la aguja y el tubo de polietileno se llevó hasta la arteria renal izquierda e inmediatamente se inició la perfusión con una solución "Locke" modificada y aerada (NaCl: 154 mM; KCl: 2.7 mM; CaCl: 1.8 mM; NaHCO₃: 2.4 mM (Niijima, 1971); glucosa: 10.0 mM. La adición extra de glucosa al medio de perfusión se consideró ya que proporciona la energía que se requiere para el transporte tubular extra de sodio, y además por ser un factor importante en la respiración del riñón perfundido (Ross, y cols., 1973). El flujo de perfusión fue de 4-5 ml/min ya que los recipientes se mantuvieron a una altura de 110 cm a partir de la base del dispositivo, proporcionando así una presión constante de 80.88 mmHg (Niijima, 1971). La temperatura del medio de perfusión se mantuvo a 21 ± 2 °C.

Para drenar del riñón la solución de perfusión, se canuló la vena cava inferior por arriba del tronco renal derecho con una sonda de polietileno (PE-190; D.I. 0.047", D.E. 0.067"). Finalmente se ligaron la parte distal de la aorta abdominal y la vena cava inferior para asegurar que la solución introducida por la arteria renal circulara exclusivamente por el riñón, saliendo a través de la vena renal y colectándose por la vena cava inferior (figura 8).

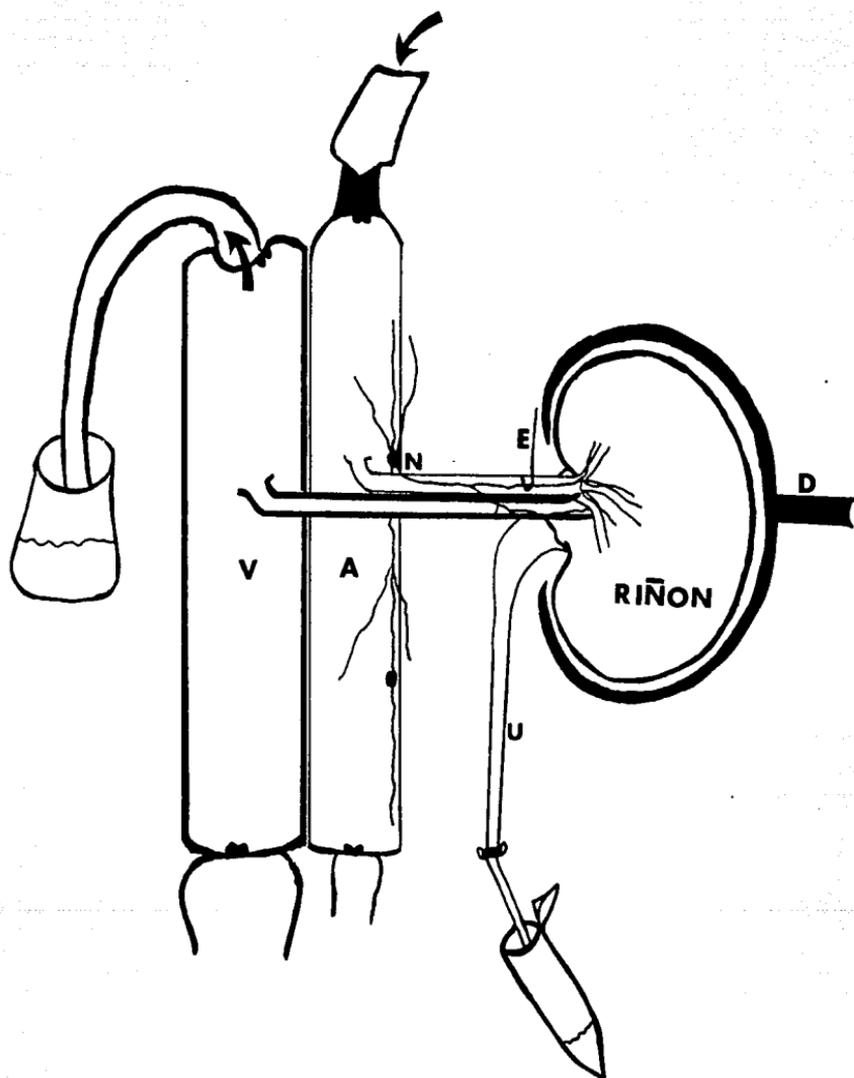


FIGURA 8: Esquema de la preparación utilizada en el registro de la AANR. Perfusión de solución Locke a través de la aorta (A), para mantener aislado de influencia humoral al riñón. A través de la vena cava (V) se obtiene la solución Locke que se filtró en el riñón. Se registro la AANR por medio de un electrodo (E) bipolar en el nervio renal (N). Se colectó la orina en un vial a través del uréter (U) en un vial. Dispositivo de fijación del riñón (D).

El animal se sacrificó inyectando 5 c.c. de aire en el ventrículo izquierdo del corazón, suprimiendo así toda influencia neural central.

En una tercera etapa, al riñón aislado y perfundido a una presión constante, se le colocó en una hemicápsula de plástico acrílico para fijarlo, cuidando de no lesionar el pedículo y el paquete vasculo-nervioso para hacer el registro (Roland, 1978). Finalmente se agregó aceite mineral para evitar la desecación.

La orina se colectó en periodos de 10 minutos, durante 90 minutos mediante una cánula insertada en el uréter (tubo de polietileno PE- 50; D.I. 0.28 mm, D.E. 0.61 mm) que se introdujo hasta la unión ureteropélvica. Se cuantificó el volumen de la orina y se determinó la concentración de Na⁺ por flamometría.

El nervio se disecó bajo un microscopio de disección (40 x) con varillas de vidrio de un diámetro en la punta de 30 micras para no lesionar las fibras. Para identificar el nervio se inició la disección desde el plexo renal y se siguió a lo largo de la arteria renal por la adventicia hasta la bifurcación intrarrenal de las arterias interlobulares y se le quitó el tejido conjuntivo (Bessou, 1969).

Se trabajaron tres grupos de ratas, a un grupo al que se le administró succinato de hidrocortisona en una dosis de 50 mg/kg de peso corporal (Sigma), a otro grupo se le administró furosemida 0.2 mg/kg de peso corporal (Lasix), (Girchev, 1985) y al tercer grupo, el control, se le administró la misma solución de perfusión (Locke).

REGISTRO Y ANALISIS

El registro de la actividad de los impulsos del nervio renal se llevó a cabo con la técnica de registro extracelular multiunitario (Astrom y Crafford, 1967; Ueda, Uchida y Kamisaka, 1967 y Niijima, 1971).

Disecado el nervio se colocó sobre un electrodo bipolar de gancho de plata clorurada. El uso de electrodos de plata clorurados evita la polarización del electrodo (MacDonald y Burns, 1975).

Las señales bioeléctricas captadas por el electrodo se transmitieron a través de una sonda de alta impedancia hacia un preamplificador (Grass, P16) en serie con un amplificador (Grass, P511), se observaron en un osciloscopio de rayos catódicos (Tektronix 5103 N) y se almacenaron en cinta magnética (Ampex PR 1200) mediante una grabadora (HP 3964). Una bocina conectada a la salida del amplificador permitió tener un control auditivo de las señales. Con el propósito de determinar el deterioro de la preparación, se hicieron experimentos preliminares en los que se observó durante cinco horas el desarrollo temporal de la actividad multiunitaria de las fibras aferentes. En general, la preparación se deteriora a las cuatro horas después de sacrificado el animal. Así pues, se decidió que los registros no duraran más de dos horas.

En una preparación estable, la amplitud y duración de las diversas espigas permaneció constante a lo largo del registro, por lo que la morfología de la señal no varió. Para poder elegir los valores del discriminador de amplitud a

utilizar durante el análisis de los registros fué fundamental la identificación de la naturaleza de las unidades.

Las unidades asociadas a los mecanorreceptores y a los quimiorreceptores renales fueron identificadas debido a que cambiaron su frecuencia de descarga ante cambios en la presión de perfusión o ante cambios de oxigenación (Niijima, 1971; DiBona, 1982; Recordati y cols., 1982). Otras unidades modificaron su frecuencia de descarga ante la aplicación de fármacos, la amplitud de estas unidades fué menor que la amplitud de las unidades asociadas a los mecanorreceptores y quimiorreceptores.

Para elegir la dosis y el tiempo de aplicación del furosemida se hicieron pruebas preliminares con 0.2 mg/kg (Girchev y cols, 1985) y con el doble de ésta, durante 1', 5' y 10 mins. El efecto fué más notorio a simple vista al variar el tiempo de aplicación y no al variar la dosis, por lo que se decidió aplicar 0.2 mg/kg durante diez minutos. La dosis de hidrocortisona (fofato sódico de cortisol) aplicada fué la utilizada en la terapéutica médica convencional en humanos: 50 mg/kg (Goodman y Gilman, 1986); el tiempo de aplicación fué de 10 min. Teniendo una idea del desarrollo temporal de la respuesta ante los fármacos, se decidió diseñar un patrón de muestreo que ofreciera un panorama amplio del fenómeno durante los 90 min que duró el registro sin que se perdiera información.

Antes de iniciar la grabación de los registros se esperó quince minutos con el propósito de que la actividad se

estabilizara y el registro quedara libre de señales procedentes de los mecanorreceptores y de los quimiorreceptores que responden a la isquemia. De esta forma, todos los registros se efectuaron en condiciones de oxigenación y presión de perfusión constantes.

Tres periodos se definieron: un periodo denominado control de veinte minutos de duración previo a la aplicación del fármaco, un siguiente periodo denominado estimulación de diez minutos de duración durante el cual se administró el fármaco y un último periodo denominado recuperación de sesenta minutos de duración.

El análisis de las señales se llevó a cabo mediante un discriminador de amplitud (Wiston Electronics) cuya salida se alimentó a una computadora (Apple IIe). Observando en un osciloscopio simultáneamente el registro grabado en cinta magnética y la señal digitalizada por el discriminador de amplitud generada exclusivamente por las unidades responsivas a los fármacos, se seleccionaron los niveles del discriminador de tal forma que a cada unidad correspondiera una señal digitalizada. Los datos fueron almacenados en disco flexible para ser suministrados a un programa generador de histogramas de frecuencia. Con una cámara quimográfica (Grass C4), de la pantalla del osciloscopio, ocasionalmente se tomaron fotografías de los registros considerados más representativos. Histogramas de frecuencia, de bin de 1 segundo, se construyeron a partir de la captura de datos efectuada durante solamente un minuto para los siguientes lapsos: para el periodo control se capturaron los minutos 4,

9, 14 y 19, para el periodo de estimulación se capturaron los minutos 3, 6, 9 y para el periodo de recuperación se capturaron los minutos 4, 9, 14, 19, 24, 29, 34, 39, 44, 49, 54 y 59. Los diversos histogramas así obtenidos se unieron gráficamente con el propósito de presentar el fenómeno en forma sintética.

En suma los histogramas aquí presentados no representan un evento continuo sino que son el resultado de unir una serie de muestras de un minuto de duración separados entre sí por cuatro minutos para el periodo control y para el periodo de recuperación y separados entre sí por dos minutos para el periodo de estimulación. Además, debido a la contaminación por ruido o artefactos eléctricos, se descartaron algunos lapsos de un minuto por lo cual se encontrarán discontinuidades que de ninguna manera representan una actividad nula.

Los valores del flujo urinario y de excreción de Na^+ de cada animal de los tres grupos de ratas se expresaron como porcentaje en relación a su control. A estos datos se les aplicó un análisis de varianza (AV) con una significancia de 0.05 para buscar posibles diferencias intergrupo e intragrupo.

RESULTADOS

En todas las preparaciones de riñón aislado de rata, se registró la actividad aferente multiunitaria espontánea en el nervio renal.

EFFECTO DE LA PERFUSION CON LOCKE.

Durante el registro de las cuatro preparaciones control a una presión de perfusión constante con solución Locke, la actividad aferente del nervio renal (AANR) mostró un patrón de frecuencia que fluctuó alrededor de 20 espigas/segundo con interrupciones ocasionales por salvas súbitas irregulares de no más de 40 espigas/segundo (figura 9). Esta AANR mantuvo su patrón característico de frecuencia de descarga durante el periodo de estimulación con solución Locke.

Las curvas de flujo urinario (figura 10) y las curvas de excreción de Na^+ (figura 11), de todas las preparaciones control, en un análisis cualitativo mostraron fluctuaciones irregulares en paralelo. Ambos grupos de curvas se mantuvieron dentro de un margen estable y particular para cada preparación. Más aún, no se observaron cambios drásticos en las fluctuaciones de ambos grupos durante el periodo de estimulación con solución "Locke". Mediante un A.V. intergrupo no se encontraron cambios significativos.

EFFECTO DE LA PERFUSION CON FUROSEMIDA.

Cinco preparaciones fueron estimuladas con furosemida

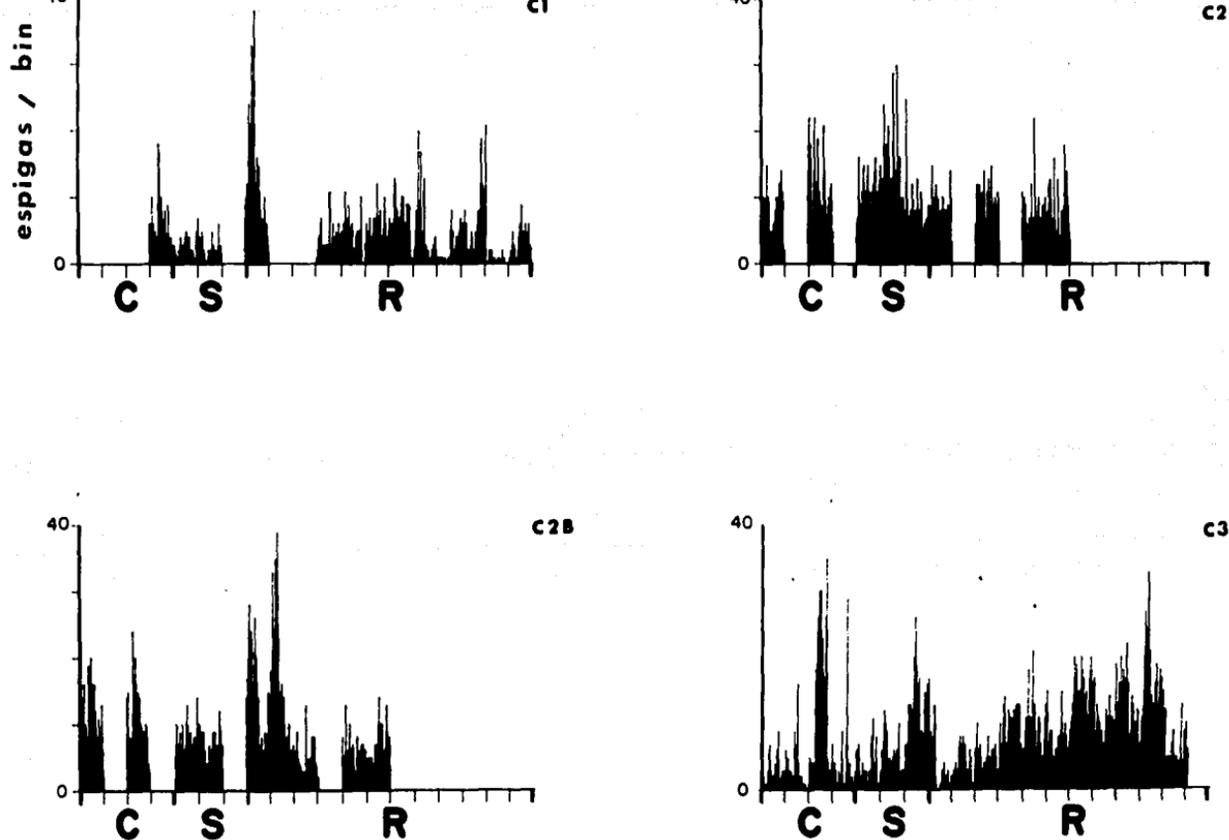


FIGURA 9: Histogramas periestimulo de la actividad aferente del nervio renal en preparaciones control. El conjunto de barras comprendido entre marca y marca delgada en el eje horizontal representa la actividad registrada durante un minuto. La marca delgada en si, representa un periodo de 4 min sin registro. Las marcas gruesas en el mismo eje delimitan al periodo control (C), al periodo de estimulación con Locke (S) y al

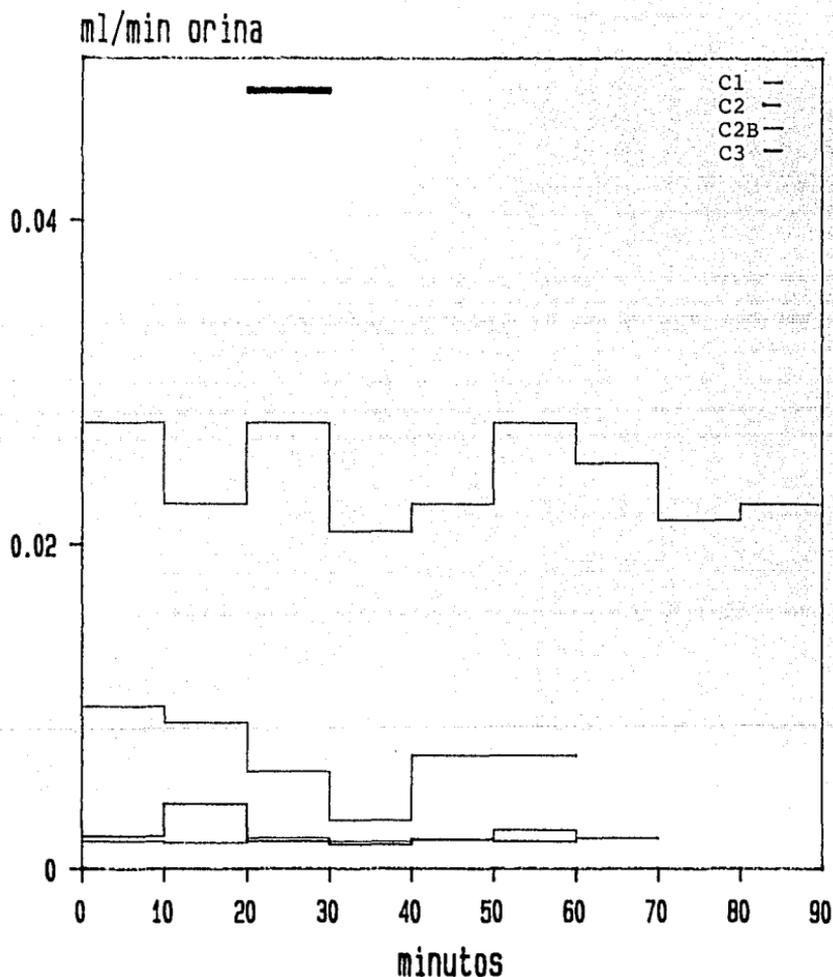


FIGURA 10: Efecto de la perfusión con solución Locke, sobre el flujo urinario en cuatro preparaciones de riñón aislado. La línea gruesa horizontal superior en el tercer periodo de 10 min, señala el periodo de la estimulación. Las claves de la parte superior derecha identifican la curva de flujo urinario para cada preparación.

uEq/min sodio

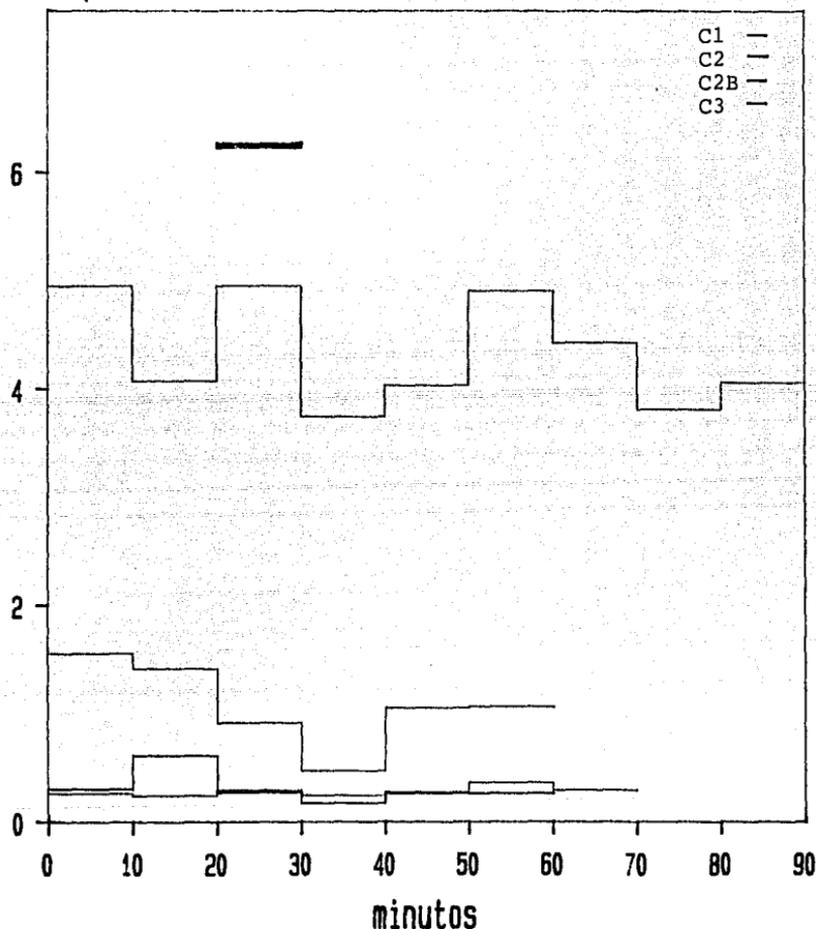


FIGURA 11: Efecto de la perfusión con solución Locke, sobre la excreción de Na^+ en cuatro preparaciones de riñón aislado. La línea gruesa horizontal superior en el tercer periodo de 10 min, señala el periodo de estimulación. Las claves de la parte superior derecha identifican la curva de excreción de Na^+ para cada preparación.

(figura 12). El patrón de frecuencia de la AANR durante el periodo control fue semejante al patrón de frecuencia de las preparaciones control.

Después de perfundir al riñón con la furosemida se observó que la frecuencia de la AANR aumentó notablemente. Al final del experimento, se observó una tendencia a recuperar los valores control (figura 12, F1; F13; F14), sin embargo, en un caso el aumento persistió hasta el final del registro (figura 12, F4). En algunos casos (figura 12, F1; F4), el efecto se presentó desde los primeros momentos de la aplicación del estímulo. El máximo efecto del fármaco se observó, en general, a los 15 minutos después de terminada la administración de la furosemida, aunque, en un caso (F5) el efecto no fue tan marcado como en los otros casos. En todas las preparaciones se observó, que el patrón de frecuencia de las salvas súbitas irregulares fue semejante al patrón de las preparaciones control.

El análisis cualitativo en las curvas de flujo urinario (figura 13) y de excreción de Na^+ (figura 14), muestra en los periodos previos al estímulo, un paralelismo semejante al de las preparaciones control. El efecto de la furosemida sobre la AANR no mostró una relación con las curvas de flujo urinario y de excreción de Na^+ , sin embargo, en un caso (F14) el análisis cualitativo mostró un aumento en ambas curvas que sugiere una relación con el efecto de la furosemida sobre la frecuencia de la AANR (figura 12, 13, 14; F14).

Cualitativamente un pequeño efecto diurético y natriurético se observó en dos casos (F1 y F13) después de la

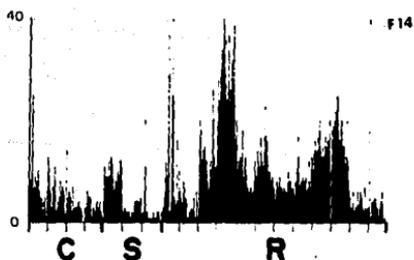
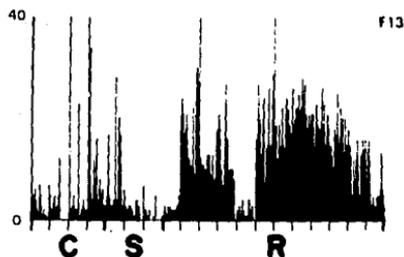
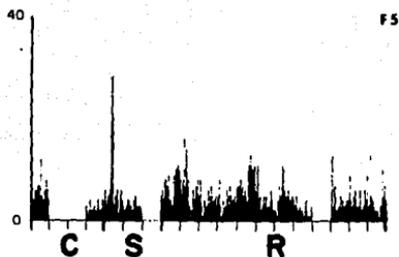
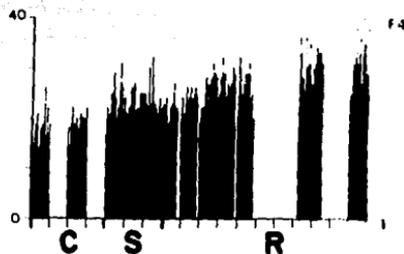
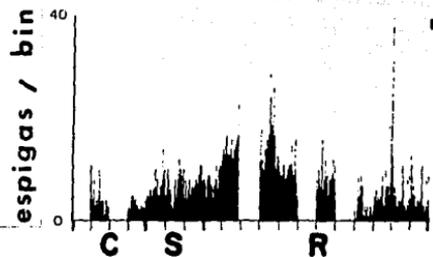


FIGURA 12: Histogramas periestimulo de la AANR ante la furosemda. El conjunto de barras comprendido entre marca y marca delgada en el eje horizontal representa la actividad registrada durante un minuto. La marca delgada en si, representa un periodo de 4 min sin registro. Las marcas gruesas en el mismo eje delimitan al periodo control (C), al periodo de estimulación con furosemda (S) y al periodo de recuperación (R). BIN = 1000 mseg. El rótulo superior derecho identifica a la preparación.

FUROSEMIDA

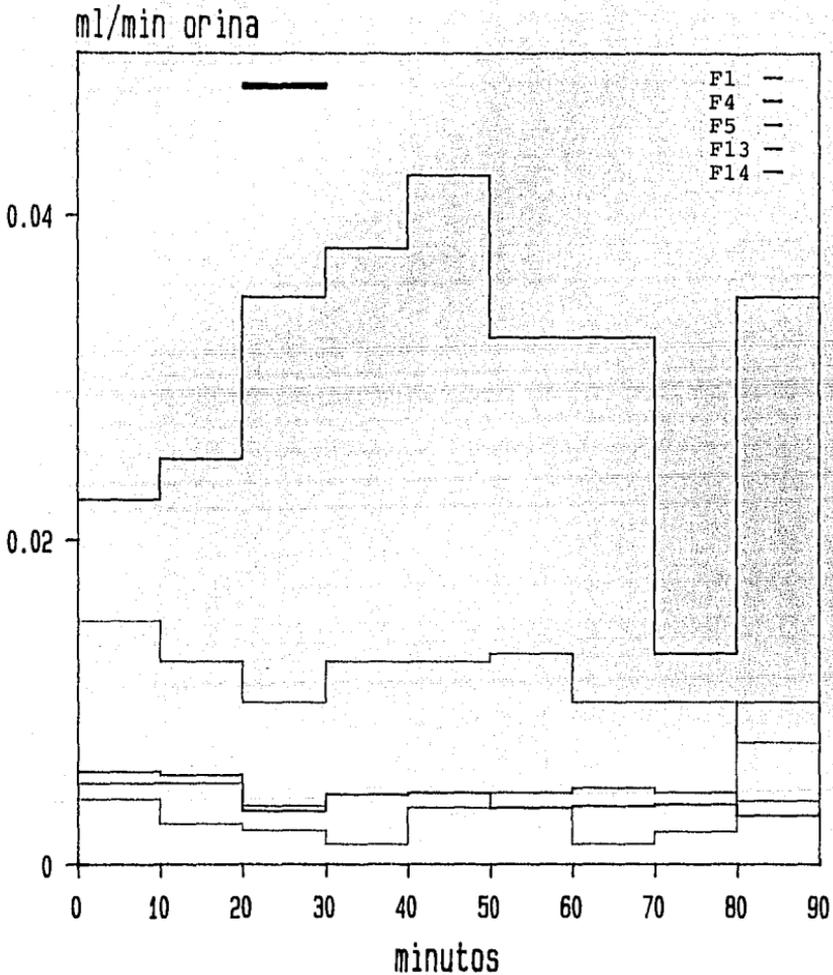


FIGURA 13: Efecto de la perfusión con furosemida, sobre el flujo urinario en cinco preparaciones de riñón aislado. La línea gruesa horizontal superior en el tercer periodo de 10 min, señala el periodo de la estimulación. Las claves de la parte superior derecha identifican la curva de flujo urinario para cada preparación.

FUROSEMIDA

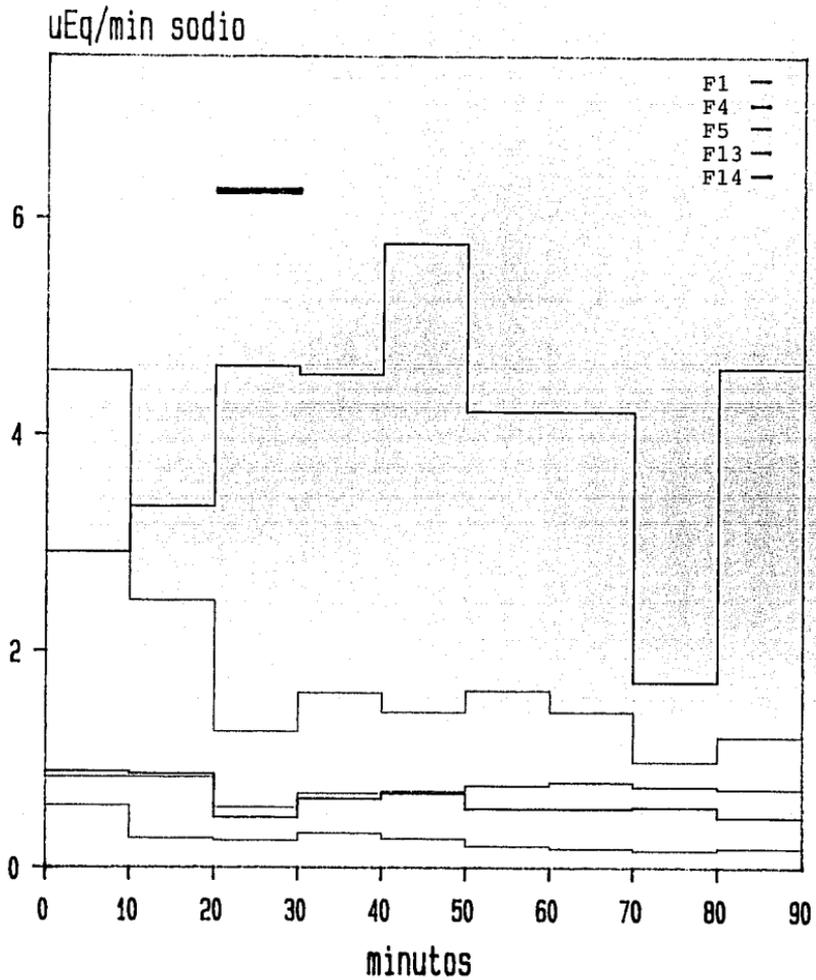


FIGURA 14: Efecto de la perfusión con furosemida, sobre la excreción de Na^+ en cinco preparaciones de riñón aislado. La línea gruesa horizontal superior en el tercer periodo de 10 min, señala el periodo de la estimulación. Las claves de la parte superior derecha identifican la curva de excreción de Na^+ para cada preparación.

administración de la furosemida ya que en ambos casos, las curvas a partir del minuto 30-40 tienden a aumentar ligeramente durante 20 y 30 minutos en un margen particular para cada preparación; en los últimos periodos ambas curvas se disocian. También se observó en los casos F4 y F5 que ambas curvas mantienen un paralelismo semejante a las preparaciones control ante la aplicación del fármaco, aunque la AANR de estas preparaciones muestran cambios cualitativos ostensibles. Sin embargo, estos cambios cualitativos en ambas curvas no fueron significativos mediante el A.V. intergrupo ni respecto al grupo control.

EFFECTO DE LA PERFUSION CON HIDROCORTISONA.

Cinco preparaciones fueron estimuladas con hidrocortisona (figura 15). La AANR mostró durante el periodo control un patrón de frecuencia similar al del grupo control. Ante el estímulo con hidrocortisona, la AANR mostró una disminución de la frecuencia en cuatro casos (figura 15, H1; H2; H3; H5). En los casos H2 y H3 el efecto de la hidrocortisona sobre la AANR sólo se observó durante el periodo de la estimulación. Sin embargo, en los casos H1 y H5 el efecto persistió durante 30 minutos después del periodo de estimulación. El efecto máximo de la hidrocortisona, sobre la AANR se mostró generalmente durante el periodo de estimulación. Después del estímulo, la frecuencia de la AANR tiende a recuperar sus valores control, en los cuatro casos. En la preparación H4 (figura 15), la hidrocortisona aparentemente tiene un efecto de aumento sobre la AANR

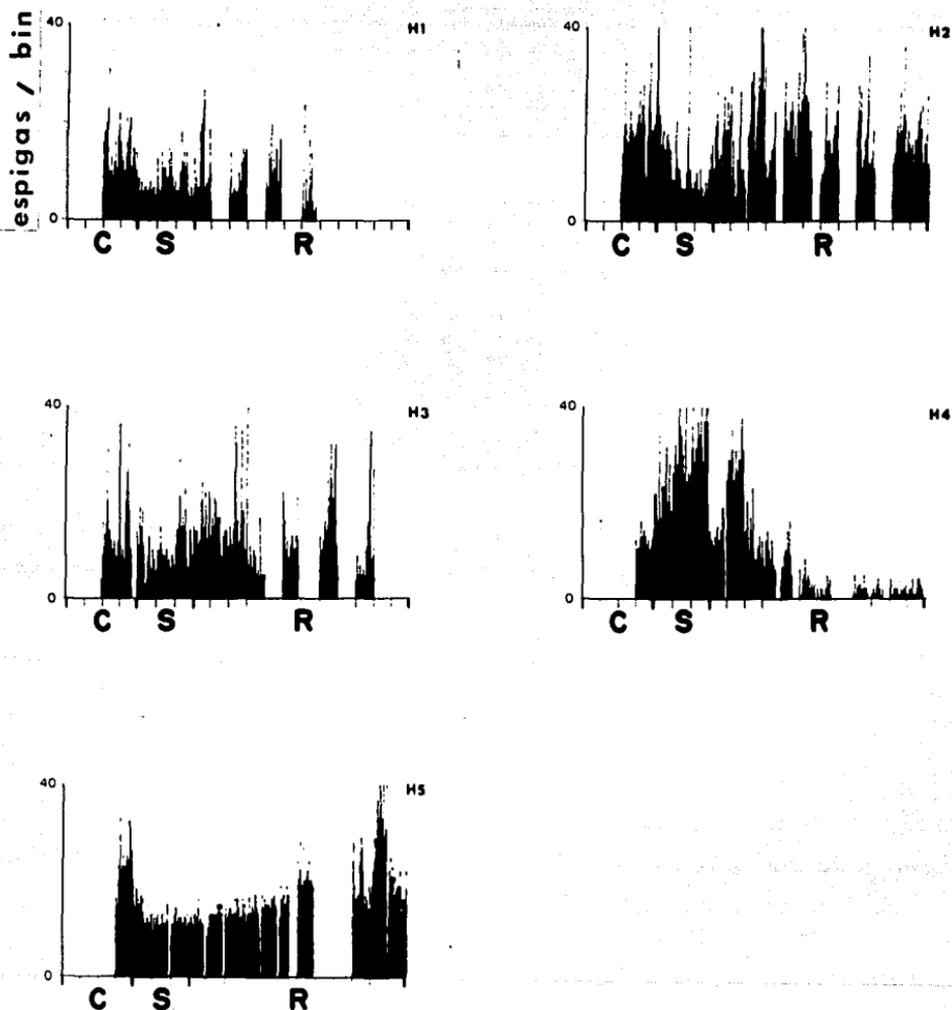


FIGURA 15: Histogramas periestimulo de la actividad aferente del nervio renal ante la hidrocortisona. El conjunto de barras comprendido entre marca y marca delgada en el eje horizontal representa la actividad registrada durante un minuto. La marca delgada en si, representa un periodo de 4 min sin registro. Las marcas gruesas en el mismo eje delimitan al periodo control (C), al periodo de estimulación con hidrocortisona (S) y al periodo de recuperación (R). BIN 1000 msec. El rótulo superior derecho identifica a la preparación.

HIDROCORTISONA

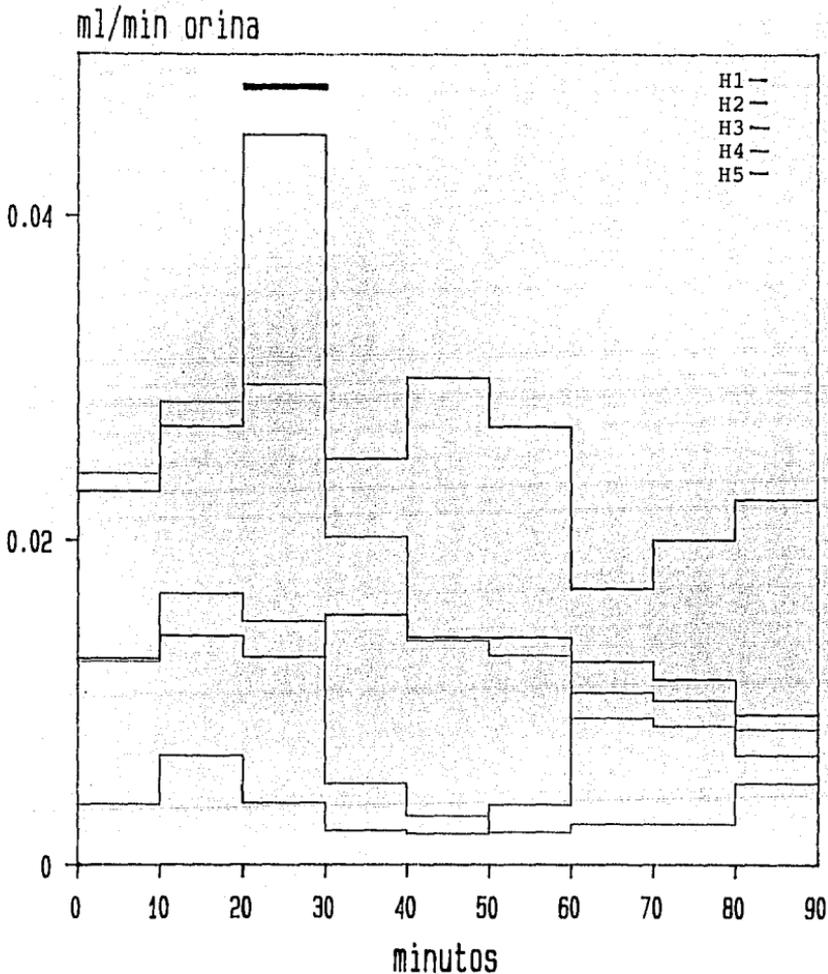


FIGURA 16: Efecto de la perfusión con hidrocortisona, sobre el flujo urinario en cinco preparaciones de riñón aislado. La línea gruesa horizontal superior en el tercer periodo de 10 min, señala el periodo de la estimulación. Las claves de la parte superior derecha identifican la curva de flujo urinario para cada preparación.

HIDROCORTISONA

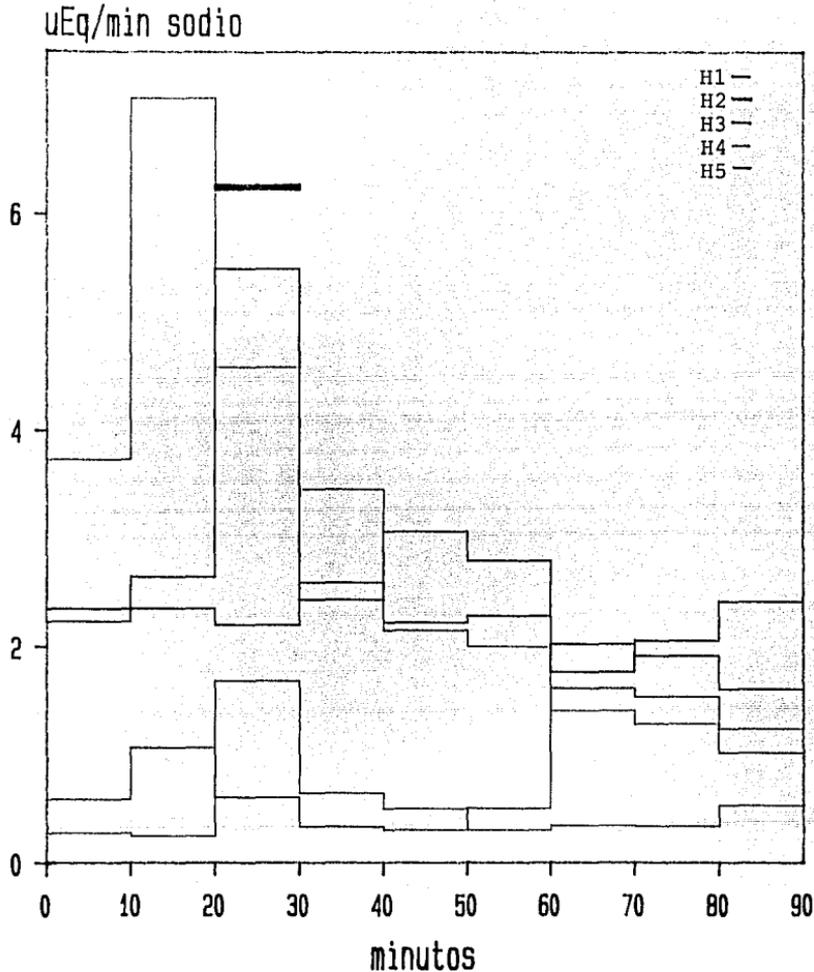


FIGURA 17: Efecto de la perfusión con hidrocortisona, sobre la excreción de Na⁺ en cinco preparaciones de riñón aislado. La línea gruesa horizontal superior en el tercer periodo de 10 min, señala el periodo de la estimulación. Las claves de la parte superior derecha identifican las curvas de excreción de Na⁺ para cada preparación.

durante el periodo de estimulación, pero a los 10 minutos después de la administración de hidrocortisona se observó una disminución notoria de la frecuencia de la AANR. Además, se observó que el efecto de la disminución persistió hasta el final del registro sin mostrar una tendencia a recuperar los valores iniciales.

En contraste al efecto de la furosemida sobre la frecuencia de la AANR, el de la hidrocortisona, al parecer, fue transitorio, pero, se asoció con un efecto antidiurético y antinatriurético en todas las curvas de flujo urinario y de excreción de Na^+ mediante el análisis cualitativo. Es de notarse que el descenso del flujo urinario y el descenso de la excreción de Na^+ fueron paralelos y se acentuaron más aún hacia el fin de la fase experimental principalmente en los casos H1, H2, H4, y H5 (figura 16 y 17). El caso H3, no sólo mostró el efecto del estímulo en ambas curvas, sino además, mostró una recuperación (figura 16 y 17, H3).

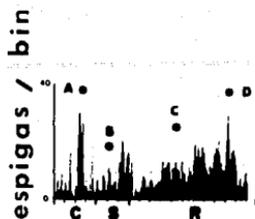
Aunque las preparaciones H1 y H2 ante la hidrocortisona mostraron cualitativamente un aumento de la excreción de Na^+ durante el estímulo, después se observó una caída drástica que osciló alrededor de los valores iniciales hasta los últimos periodos. En H3 y H4, en cambio, el descenso cualitativo de la excreción de Na^+ se inició durante el periodo de estimulación. En el caso H5, ante la hidrocortisona, ambas curvas muestran un descenso gradual cualitativo en paralelo que alcanza un valor inferior al del inicio de la prueba. El A.V. intergrupo no reportó cambios significativos en el flujo urinario ni en la excreción de Na^+ .

Como ya se indicó anteriormente, mediante un análisis cualitativo no se detecta una relación de la AANR con las curvas de flujo urinario y de excreción de Na^+ ante la furosemida, sin embargo, se presenta una relación en una sola preparación. En cambio, en los experimentos con hidrocortisona la relación de la modificación de la AANR con las modificaciones cualitativas de las curvas de flujo urinario y de excreción de Na^+ fueron más ostensibles en todas las preparaciones.

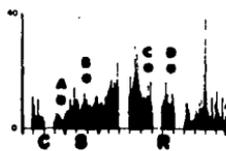
En suma, el A.V. de los datos de flujo urinario y de excreción de Na^+ aplicado a los tres grupos de ratas, con una significancia de 0.05, no indicó diferencias significativas intergrupo ni intragrupo.

En la figura 18 se presentan muestras de AANR tomadas de la pantalla del osciloscopio.

C3



F1



H5

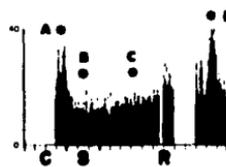


FIGURA 18: Muestras de registros de AANR multiunitaria tomados de la pantalla del osciloscopio. El rotulo superior izquierdo identifica a la preparacion representativa para los experimentos control (C3), para los experimentos con furosemida (F1) y con hidrocortisona (H5). Los asteriscos A, B, C y D en cada uno de los histogramas marcan el momento en que se obtuvieron los trazos A, B, C y D. Cada trazo corresponde a cinco segundos de registro. Los trazos A fueron obtenidos durante el periodo control, los trazos B durante el periodo de estimulacion y los trazos C y D durante el periodo de recuperacion. Las flechas en los registros señalan el tipo de espigas que fueron usadas para construir los histogramas.

DISCUSION

En el presente estudio la frecuencia de la AANR en una preparacion de riñon aislado de rata fué modificada por la perfusion con farmacos que afectan el transporte de Na^+ a través del epitelio tubular renal. Asi la furosemida produjo un aumento de la frecuencia de la AANR y la hidrocortisona produjo una disminucion de la frecuencia de la AANR.

La furosemida es un potente natriuretico ya que inhibe el sistema de cotransporte $\text{Na}^+_{2\text{Cl}^-}\text{K}^+$ en la membrana luminal y disminuye la actividad de la bomba $\text{Na}^+\text{K}^+\text{ATPasa}$ (Prina y cols., 1987; Dirks and Sutton, 1986; Kaissling y cols., 1985). La hidrocortisona es un antinatriurético que facilita el transporte de Na^+ (Brook y Blakemore, 1989; Hensen y cols., 1988).

Los cambios en la frecuencia de la AANR ante la modificacion de la reabsorcion de Na^+ producida por los anteriores fármacos, sugieren la existencia de receptores asociados a las fibras registradas, que responden a los cambios en el transporte de Na^+ a través del epitelio tubular renal. La existencia de receptores de diferente naturaleza como lo son los mecanorreceptores, los osmorreceptores y los quimiorreceptores, también ha sido inferida, de los cambios en la frecuencia de la AANR ante modificaciones de la presión arterial intrarrenal, de la osmolaridad y ante las modificaciones en la composición del liquido intersticial renal (Niijima, 1971; 1975; Calaresu y cols., 1976, Recordati y cols., 1978; 1980; 1981).

Es muy posible que parte del aumento de la frecuencia en la AANR observado por Koop y cols. (1984), ante la perfusión retrograda ureteropélvica con solución salina hipertónica se deba a la activación de los receptores de Na^+ postulados en el presente estudio puesto que, estos autores encontraron una disminución de la actividad eferente del nervio renal del riñón contralateral que se acompaña de un aumento del flujo urinario y de un aumento de la excreción de Na^+ .

Otros investigadores enfatizan que la información sensorial originada en el riñón de gato y de la rata, es importante para la regulación de los líquidos corporales (Caverson y Ciriello, 1987; Ciriello y Calaresu, 1983; Day y Ciriello, 1985; Calaresu y Ciriello, 1981), en este contexto, es muy posible que la información originada en los receptores al Na^+ aquí postulados, al llegar al SNC, participe en la actividad del SAN que regula el contenido corporal de Na^+ en el LEC. El sustrato anatómico de la vía involucrada en la transmisión de dicha información, bien pudiera ser, el haz de fibras mielínicas o amielínicas provenientes del riñón descritas por Zimmermann (1972, 1975); Simon y Schramm (1984) indicaron que estas fibras mielínicas alcanzan ipsilateralmente al núcleo gracilis y al núcleo solitario via el fascículo gracilis.

Al estimular las fibras aferentes del nervio renal se observó una excitación de las neuronas secretoras de la HAD localizadas en el NSU y en el NPV hipotalámicos. De lo anterior se sugirió la existencia de una asa refleja renal-

paraventricular-supraóptica que contribuye en la regulación de la liberación de la HAD (Caverson y Ciriello, 1988; Caverson y Ciriello, 1987; Day y Ciriello, 1985). De forma semejante, la vía que transmite la información que se origina en los receptores al Nat aquí postulados, constituiría el asa recurrente del SAN (Guevara, 1984/85).

Es preciso recalcar que fue sorprendente registrar actividad espontánea en las preparaciones usadas en este estudio, este tipo de actividad se ha registrado solamente en preparaciones *in vivo* (Recordati, 1981, 1982; Rogenes, 1982; DiBona y Sawin, 1982; 1986; Caverson y Ciriello, 1987). Aún más, Niijima (1971;1975) reporta que en riñones aislados, en condiciones similares a las preparaciones usadas en el presente estudio, registró actividad aferente multiunitaria solamente al incrementar la presión de perfusión arterial o al incrementar la presión venosa y además remarca que no se presentó actividad en reposo. En relación a la AANR espontánea en reposo, *in vivo*, Recordati y cols. (1981) encontraron que, después de matar al animal y mantener al riñón perfundido con solución salina isotónica, observaron una supresión de la descarga en reposo de la AANR y posteriormente una activación masiva. Esta observación les indicó que varias fibras aferentes del nervio renal pueden permanecer activas después de muerto el animal, mientras que otras fibras aparentemente suprimen su descarga. También, los autores sugieren que, la infusión de NaCl isotónica regenera la habilidad de éstas unidades para descargar potenciales de acción. Con base en los datos anteriores, se

puede inferir que la AANR aquí presentada puede estar respondiendo a los cambios en la reabsorción de Na^+ hacia el intersticio renal.

Con la técnica utilizada en el presente estudio no se puede determinar la ubicación de los posibles receptores asociados a las fibras registradas, ni tampoco se pueden identificar las características fisiológicas de las fibras que se registraron. Aún más, la técnica no permite hacer un registro selectivo de las fibras, debido a que el nervio renal es muy delgado y al diseccionar las fibras que lo componen pueden ser lesionadas. Así, el número de señales registradas fué diferente de preparación a preparación. Sin embargo, la AANR registrada en las preparaciones control y la registrada en los periodos control de las preparaciones experimentales permitieron identificar el patrón de descarga espontánea en reposo y así detectar fácilmente las modificaciones de la frecuencia de descarga de la AANR ante los fármacos.

Por otro lado, los valores de flujo urinario y de excreción de Na^+ en las muestras de orina de los animales control, indican una condición de antidiuresis y de natriuresis, debido a que los valores de dichas muestras difieren de los valores fisiológicos reportados en riñones aislados (Ross y cols., 1973). El A.V. intergrupo indicó que esta condición fisiológica se mantuvo en todas las preparaciones puesto que no hubo diferencias significativas en los datos de flujo urinario ni en los de excreción de Na^+ . Sin embargo, los valores de la excreción de Na^+ indican

una natriuresis importante, lo que obliga a pensar que a nivel del túbulo proximal del riñón existe una inhibición de la reabsorción de Na^+ que bloquea la habilidad del riñón para generar agua libre, teniéndose como resultado una antidiuresis a pesar de que la preparación no esté bajo la influencia de la HAD. Al respecto, estudios bioquímicos reportan que en el riñón, *in vivo*, el transporte activo de Na^+ en el túbulo renal es un proceso que requiere de energía y que depende de la presión hidrostática de los capilares así como de la presión osmótica del líquido intersticial. En vista de estos hechos, varios autores precisan que un riñón aislado *in vitro* debe mantenerse con un medio de perfusión que contenga un sustrato como la glucosa que le proporcione energía y con un componente protéico como la albumina que permita mantener constante la presión oncótica e hidrostática. Ante estas condiciones, el riñón aislado muestra un incremento en la reabsorción de Na^+ , de un 77 % a un 98 % de la carga filtrada de Na^+ (Ross y cols., 1973). Al considerar las observaciones relatadas anteriormente en conjunto con la AANR constante y con la condición antidiurética y natriurética de las preparaciones de riñón aquí usadas, es posible sugerir que los receptores al Na^+ de estas preparaciones mantuvieron una actividad constante a lo largo del experimento debido a que existió una disminución de la reabsorción de Na^+ a través del epitelio tubular renal.

En general, la frecuencia de la AANR aumentó ante la aplicación de la furosemida, sin embargo, el A.V. intergrupo

e intragrupo con el control y el análisis cualitativo de cuatro de las preparaciones indicaron que no hay cambios significativos en el flujo urinario ni en la excreción de Na^+ . La ausencia de la respuesta marcada de diuresis y de natriuresis del riñón aislado ante la furosemida, como sería de esperarse (White y cols., 1981; Puschett, 1981; Chrysant y cols., 1981; Girchev y cols., 1985) indican una falta de inhibición por la furosemida sobre el sistema de cotransporte $\text{Na}^+_{2\text{Cl}}\text{-K}^+$ en la membrana luminal de la AAGH, aunque, el aumento de la frecuencia de la AANR al aplicar la furosemida indique la inhibición de dicho sistema. El efecto aparentemente contradictorio de la furosemida sobre la respuesta diurética y natriurética en las muestras de orina sugiere que aunque su efecto es inmediato, la respuesta natriurética ostensible en la orina debe ser más tardía. A este respecto, la acción de la furosemida puede estar dependiendo de varios factores como son: las condiciones experimentales de la preparación, la temperatura, la cinética de reacción entre droga y receptor, las cuales determinan la eficacia y potencia del fármaco, y finalmente, el medio de perfusión que determina la composición intra y extracelular del riñón cuya condición determina las propiedades farmacocinéticas de distribución y excreción del fármaco. Observaciones experimentales de Guevara (1974) sobre el uso de diuréticos y la experiencia clínica reportan que el efecto natriurético de la furosemida en la orina se observa a los 15 min al administrarse intravenosamente, pero que su efecto

máximo se detecta a los 90 min. Con base en estos resultados, el efecto aparentemente contradictorio de la furosemida sobre el flujo urinario y la excreción de Na^+ sugieren por un lado que el efecto natriurético en la orina no es detectable debido a que la dosis de furosemida en el medio de perfusión ya no recircula durante y después del periodo de estimulación por lo que no alcanza su concentración máxima para inhibir por completo el sistema de cotransporte $\text{Na}^+_{2\text{Cl}^-}\text{K}^+$ en la membrana luminal que manifieste un efecto natriurético ostensible, aunque el sensor al Na^+ logre modificar su respuesta al producirse un cambio transitorio en el transporte tubular de Na^+ . Por otro lado, también el efecto contradictorio de la furosemida en las curvas de flujo urinario y de excreción de Na^+ sugieren que debido a la condición natriurética de la preparación la furosemida a nivel del túbulo distal produce un efecto compensatorio de reabsorción de Na^+ que modifica la excreción de Na^+ . Al respecto, estudios en túbulos aislados de rata, muestran que la acción de la furosemida, tanto a dosis altas como a dosis pequeñas, se modifica produciendo una respuesta compensatoria que incrementa la actividad de la bomba $\text{Na}^+\text{K}^+\text{ATPasa}$ que permite la reabsorción de Na^+ en el túbulo contorneado distal (TCD) y en el túbulo colector cortical (TCC) (Pnina y cols., 1987; El Mernessi y Doucet, 1984). Es preciso enfatizar al respecto que el aumento de la activación de la bomba $\text{Na}^+\text{K}^+\text{ATPasa}$ en el TCD y en el TCC se produce por el aumento de la liberación de Na^+ hacia el nefrón distal. Esta liberación de Na^+ a la vez se debe a la

inhibición de la reabsorción de Na^+ en el AAGH provocada por la furosemida. También es conveniente recordar que la furosemida es un potente diurético que actúa a nivel de la AAGH inhibiendo el proceso de cotransporte de $\text{Na}^+_{2\text{Cl}}\text{-K}^+$ en la membrana luminal (Schlatter y cols., 1983) y que de acuerdo al transporte de NaCl que se lleve a cabo dentro del AAGH dependerá proporcionalmente la liberación de Na^+ y agua en este segmento. Así pues, parece razonable suponer que a pesar de la continua natriuresis que presentaron los riñones de este estudio, la acción de la furosemida se manifestó. Así, por un lado, la furosemida al parecer, activó los receptores al Na^+ pues el patrón de la frecuencia de la AANR se modificó notablemente. Por otro lado, a nivel del TCD y del TCC se produjo un efecto compensatorio que ocasionó que el flujo urinario y la excreción de Na^+ no se modificaran de una manera marcada.

Aunque los datos de la bibliografía indiquen que la furosemida es un potente natriurético (Chrysant y cols., 1981; Puschett, 1981; White, 1981; Gerber, 1983) los resultados aquí presentados y las evidencias de Phina y cols. (1987) así como las de El Mernessi y Doucet (1984) permiten sugerir que el efecto de la furosemida dependerá tanto de las condiciones fisiológicas en las que se encuentre el riñón para llevar a cabo sus funciones básicas (filtración, reabsorción y secreción) como de las dosis de este fármaco. Además, los resultados de la AANR ante la furosemida permiten sugerir que los receptores al Na^+ pueden activarse aún más,

al detectar los cambios en el transporte de Na^+ a través del epitelio tubular.

Ante los efectos de la hidrocortisona, la AANR manifestó respuestas opuestas, puesto que la frecuencia de la AANR disminuyó. Estos efectos se asociaron con respuestas de antinatriurésis y antidiurésis mediante la descripción cualitativa del flujo urinario y de la excreción de Na^+ al perfundir la hidrocortisona. La respuesta breve que muestran los registros de la AANR y los efectos de antinatriurésis y antidiurésis ante la hidrocortisona permiten postular que el fármaco al facilitar la reabsorción de Na^+ a nivel del túbulo distal, puede disminuir la activación de los receptores al Na^+ . Las modificaciones que presenta la AANR ante la hidrocortisona son bastante ostensibles, aunque el A.V. del flujo urinario y de la excreción de Na^+ no indicó cambios significativos intergrupo ni intragrupo con los animales control ni con los animales tratados con furosemida. Esto último sugiere que el efecto antinatriurético de la hidrocortisona, al igual que el efecto natriurético de la furosemida, estén dependiendo de factores farmacocinéticos y condiciones experimentales de la preparación. Considerando lo anterior es permisible sugerir que para detectar los efectos de natriuresis y antinatriuresis francos en preparaciones como las aquí utilizadas, sería necesario que la colección urinaria se hiciera durante periodos bastante prolongados y que además el medio de perfusión con el fármaco recirculara a través del nefron, puesto que a nivel del túbulo distal y colector la cantidad de reabsorción de Na^+ es

de un 2 % del total de Na^+ filtrado (Gerber, 1983; Dirks y Sutton, 1986).

Las modificaciones de la AANR ante la hidrocortisona permiten sugerir que este fármaco pudiera ser un factor humoral que formara parte del SAN para regular la excreción renal de Na^+ , y de esta forma mantense en balance el contenido de Na^+ en el LEC (Smith, 1957; Guevara, 1984/85). En el sistema del SAO se ha identificado a la HAD como el factor hormonal que regula la excreción de agua para que se mantenga así la osmolaridad del LEC (Verney, 1947; Smith, 1957; Guevara, 1984/85).

Al respecto estudios recientes inmunocitoquímicos reportan la existencia de receptores a glucocorticoides, diferentes a los receptores a la aldosterona, cuya función al parecer es la de estimular la reabsorción de Na^+ en el epitelio de la corteza renal (Bastl y cols., 1984; Eisen y cols., 1986). Es bien sabido que la hidrocortisona (cortisol) administrada en grandes cantidades, a animales adrenalectomizados, no siempre provoca la retención de Na^+ y agua, por lo que se ha sugerido, que este glucocorticoide participa en la regulación del contenido corporal de estas sustancias (Brooks y Blakemore, 1989; Hensen y cols., 1988). Por lo tanto, los datos aquí analizados y las evidencias anteriores permiten apoyar aún más la existencia de los receptores al Na^+ y además sugerir que la activación de éstos a nivel del epitelio tubular puede depender directamente del transporte de Na^+ que se realiza de la luz del túbulo hacia

el intersticio renal, en el cual se involucra primordialmente la bomba de $\text{Na}^+ \text{K}^+$ ATPasa.

Los efectos obtenidos en el registro de la AANR ante la furosemina y la hidrocortisona considerados en conjunto con las evidencias que postulan la existencia del SAN (Smith, 1957; Guevara, 1974; 1984/85), permiten sugerir la existencia de un asa recurrente que transmita al SNC la información de la pérdida o conservación renal de Na^+ .

Los receptores al Na^+ podrían estar localizados a nivel del túbulo distal puesto que en los últimos años Barajas y cols. (1984) reportan, en un estudio morfológico cuantitativo con norepinefrina marcada, que todas las porciones del túbulo cortical se encuentran bajo influencia neural y que una variedad de terminales nerviosas se encuentran en contacto con la arteriola aferente a nivel del túbulo distal. Además, otros estudios morfológicos sugieren que la inervación intrarrenal cuenta con aferencias amielínicas y mielínicas que transmiten información proveniente del riñón (Zimmermann, 1972, 1975; Barajas y Wang, 1978). La función de la información sensorial del riñón hacia el SNC todavía es incierta, sin embargo, diversos autores reportan en estudios electrofisiológicos la existencia de descarga aferente en las fibras del nervio renal proveniente del riñón (Astrom y Crafoord, 1967, 1968; Ueda y cols., 1967; Nijima, 1971, 1972, 1975; Recordati y cols., 1978, 1980, 1982).

De lo anterior podría pensarse que la información proveniente del riñón al integrarse en el SNC no sólo este regulando la cantidad de Na^+ en el organismo, sino que además

el SAN esté influyendo sobre la regulación del volumen del LEC. Un acercamiento a este punto pudiera ser el determinar con métodos de depuración renal, la cantidad del agua osmóticamente libre y la cantidad de Na^+ , al estimular al natriorreceptor con soluciones pobres en Na^+ a través del III VC.

Queda aun por establecerse la ubicación de los receptores de Na^+ en el riñón y las vías hacia el SNC así como el factor humoral que media el ajuste preciso de Na^+ en el LEC. Una forma posible de hacerlo sería registrando la AANR, y por un método de microperfusión aplicar sustancias inhibitoras y activadoras de la reabsorción de Na^+ en distintas regiones del túbulo distal. Para localizar las vías que están involucradas en este circuito homeostático, una vez identificadas las fibras que responden a la activación de los receptores de Na^+ intrarrenales se puede hacer un rastreo retrogrado con peroxidasa de rábano y por técnicas histológicas identificar las fibras correspondientes.

La identificación del neurotransmisor involucrado se haría cuantificando los niveles séricos de los glucocorticoides como el cortisol y la cortisona ante la hemoconcentración de Na^+ o ante la hemodilución de Na^+ .

REFERENCIAS

1. Andersson, B., K. Olsson, and R.G. Warner, Dissimilarities between the central control of thirst and the release of antidiuretic hormone (ADH). *Acta Physiol. Scand.* 71: 57-64, 1967.
2. Andersson, B., M.F. Dallman, and K. Olsson. Evidence for hypothalamic control of renal sodium excretion. *Acta Physiol. Scand.* 75: 496-510, 1969.
3. Andersson, B. Thirst and brain control of water balance. *Amer. Sci.* 59: 408-415, 1971.
4. Andersson, B., L. Eriksson, O. Fernández, C.G. Kolmodin, and R. Oltner. Centrally mediated effects of sodium and angiotensin II on arterial blood pressure and fluid balance. *Acta Physiol. Scand.* 85: 398-407, 1972.
5. Andersson, B., L.G. Leksell, and F. Lishajko. Perturbations in fluid balance induced by medially placed forebrain lesions. *Brain Res.* 99: 261-275, 1975.
6. Andersson, B. Regulation of body fluids. *Ann. Rev. Physiol.* 39: 185-200, 1977.
7. Andersson, B., Regulation of water intake. *Physiol Rev.* 58: 582-603, 1978.
8. Andersson, B., L.G. Leksell, F. Lishajko, and M. Rundgren. Cerebral sodium-noradrenaline interaction: dipsogenic, antidiuretic and natriuretic effects. *Acta Physiol. Scand.* 102: 254-256, 1978.
9. Astrom, A., and J. Crafoord. Afferent activity recorded in the kidney nerves of rats. *Acta Physiol. Scand.* 70: 10-15, 1967.
10. Astrom, A., and J. Crafoord. Afferent and efferent activity in the renal nerves of cats. *Acta Physiol. Scand.* 74: 69-78, 1968.
11. Badder, E.M., B. Duarte, J.F. Seaton, M. Hamaji, and T.S. Harrison. Angiotensin II restoration of reflex adrenal medullary secretion to anephric dogs is physiologically dose dependent. *Endocrinology* 117: 1920-1929, 1985.
12. Barajas, L. Innervation of the renal cortex. *Federation Proc.* 37: 1192-1201, 1978.
13. Barajas, L., and P. Wang. Myelinated nerves of the rat kidney. *J. Ultrastruct Res.* 65: 148-162, 1978.

14. Barajas, L., and P. Wang. Localization of tritiated norepinephrine in the renal arteriolar nerves. *Anat. Rec.* 195: 525-534, 1979.
15. Barajas, L., and J. Muller. The innervation of the juxtaglomerular apparatus and surrounding tubules: a quantitative analysis by serial section electron microscopy. *J. Ultrastruct. Res.* 43: 107-132, 1973.
16. Barajas, L., P. Wang, K. Powers, and S. Nishio. Identification of renal neuroeffector junctions by electron microscopy of reembedded light microscopy autoradiograms of semithin sections. *J. Ultrastruct. Res.* 77: 379-385, 1981.
17. Barajas, L., and P. Wang. Simultaneous ultrastructural visualization of acetylcholinesterase activity and tritiated norepinephrine uptake in renal nerves. *Anat. Rec.* 205: 185-195, 1983.
18. Barajas, L., K. Powers, and P. Wang. Innervation of the renal cortical tubules: a quantitative study. *Am. J. Physiol.* 247 (Renal Fluid Electrolyte Physiol. 16): F50-F60, 1984.
19. Beacham, W.S., and D.L. Kunze. Renal receptors evoking a spinal vasomotor reflex. *J. Physiol.* 201: 73-85, 1969.
20. Bealer, S.L., and A.K. Johnson. Preoptic hypothalamic periventricular lesions alter food associated drinking and circadian rhythms. *J. Comp. Physiol. Psychol.* 94: 547-555, 1980.
21. Bennett, G.W., and S.A. Whitehead; *Mammalian Neuroendocrinology*; New York; Oxford University Press; 1983; pp. 81-109.
22. Bernard, C.; *Leçons sur les propriétés physiologiques et les alterations pathologiques des liquides de l'organisme.* (tome 1); Paris; J.B. Baillièrre et fils; 1859; pp. 297-298.
23. Bessou, P., and E.R. Perl. Response of cutaneous sensory units with unmyelinated fibers to noxious stimuli. *J. Neurophysiol.* 32: 1025-1043, 1969.
24. Blantz, R.C., and B. J. Tucker. Measurements of glomerular dynamics. *Methods in pharmacology*, 4B: 141-163, 1978.
25. Bravo-Llamasa, J.L., F. Dies, J. Negrete-Martinez, y M. Quijano-Narazo. Los límites de la homeostasis. *Gaceta Médica de México.* 104(5): 365-397, 1972.
26. Brooks, V.L., and L.J. Blakemore. Vasopressin: a regulator of adrenal glucocorticoid production?. *Am. J. Physiol.*

256 (Endocrinol. Metab. 19): E566-E572, 1989.

27. Brown, J.J., J. Casals-Stenzel, A.M.M. Cumming, D.L. Davis, R. Fraser, A.F. Lever, J.J. Morton, P.F. Semple, M. Tree, and J.I.S. Robertson. Angiotensin II, aldosterone and arterial pressure: a quantitative approach. Hypertension Dallas 1: 159-179, 1979.
28. Brown, G.P., and J.G. Douglas. Angiotensin II binding sites in rat and primate insolated renal tubular basolateral membranes. Endocrinology 112: 2007-2014, 1983.
29. Buggy, J., and A.K. Johnson. Preoptic hypothalamic periventricular lesions: thirst deficits and hypernatremia. Am. J. Physiol 233 (Regulatory Integrative Comp. Physiol. 2): R44-R52, 1977.
30. Burg, M., L. Stoner, J. Cardinal, and N. Green. Furosemide effect on insolated perfused tubules. Am. J. Physiol. 225: 119-124, 1973.
31. Calaresu, F.R., A. Stella, and A. Zanchetti. Haemodynamic responses and renin release during stimulation of afferent renal nerves in the cat. J. Physiol. (London), 255: 687-700, 1976.
32. Calaresu, F.R., P. Kim, H. Nakamura, and A. Sato. Electrophysiological characteristics of renorenal reflexes in the cat. J. Physiol. (London), 283: 141-154, 1978.
33. Calaresu, F.R., and J. Ciriello. Renal afferent nerves affect discharge rate of medullary and hypothalamic single units in the cat. J. Auton. Nerv. Syst. 3: 311-320, 1981.
34. Cannon, W.B.; The wisdom of the body; New York; W.W. Norton and Co; 1932.
35. Cardinal, J., J.-Y. Lapointe, and R. Laprade. Luminal and peritubular ionic substitutions and intracellular potential of the rabbit proximal convoluted tubule. Am. J. Physiol. 247(Renal Fluid Electrolyte Physiol. 16): F352-F364, 1984.
36. Caverson, M. M. and J. Ciriello. Effect of stimulation of afferent renal nerves on plasma levels of vasopressin. Am. J. Physiol 252 (Regulatory Integrative Comp. Physiol. 21): R801-R807, 1987.
37. Caverson, M.M., and J. Ciriello. Contribution of paraventricular nucleus to afferent renal nerve pressor response. Am. J. Physiol. 254 (Regulatory Integrative Comp. Physiol. 23): R531-R543, 1988.
38. Cemerikic, D., C.S. Wilcox, and G. Giebisch. Intracellular potential and K activity in rat kidney proximal tubular

- cells in acidosis and K depletion. *J. Membr. Biol.* 69: 159-165, 1982.
39. Chrysant, S.G., F.R. Baxter, and R.L. Amonette. The mechanism for the renal hemodynamic and tubular action of furosemide. *Arch. Int. Pharmacodyn.* 249: 289-296, 1981.
 40. Ciriello, J., and F. R. Calaresu. Hypothalamic projections of renal afferent nerves in the cat. *Can. J. Physiol. Pharmacol.* 58: 574-576, 1980.
 41. Ciriello, J., and F.R. Calaresu. Central projections of afferent renal fibers in the rat: an anterograde transport study of horseradish peroxidase. *J. Auton. Nerv. Syst.* 8: 273-285, 1983.
 42. Ciriello, J., and M.M. Caverson. Central organization of afferent renal nerve pathways. *Clin. Exp. Hypertens.* A9, Suppl. 1:33-76, 1987.
 43. Conn, J.W. Presidential Adress Part I Painting Background Part II. Primary Aldosteronism, a New Clinical Syndrome. *J. Lab. & Clin. Med.* 45(1): 3-17, 1955.
 44. Cox, P.S., D. A. Denton, D.R. Mouw, and E. Tarjan. Natriuresis induced by localized perfusion within the third cerebral ventricle of sheep. *Am. J. Physiol.* 252 (Regulatory Integrative Comp. Physiol. 21): R1-R6, 1987.
 45. Davson, H.; *The physiology of the CSF*; London; Churchill; 1987.
 46. Day, T. A. and J. Ciriello. Afferent renal nerve stimulation excites supraoptic vasopressin neurons. *Am. J. Physiol.* 249 (Regulatory Integrative Comp. Physiol. 18): R368-R371, 1985.
 47. De Mylder, G.G.; *The "neurality" of the kidney*; Blackwell, Oxford; 1952.
 48. DiBona, G.F. Neurogenic regulation of renal tubular sodium reabsorption. *Am. J. Physiol.* 233: F73-F81, 1977.
 49. DiBona, G.F., and L.L. Rios. Renal nerves in compensatory renal responses to contralateral renal denervation. *Am. J. Physiol.* 238(Renal Fluid Electrolyte Physiol. 7): F26-F30, 1980.
 50. DiBona, G. F. The functions of the renal nerves. *Rev. Physiol. Biochem. Pharmacol.* 94: 75-181, 1982.
 51. DiBona, G. F., and L.L. Sawin. Effect of renal nerve stimulation on NaCl and H₂O transport Henle's loop of the rat. *Am. J. Physiol.* 243: F576-F580, 1982.

52. DiBona, G.F., and L.L. Sawin. Renal nerves in renal adaptation to dietary sodium restriction. *Am. J. Physiol.* 245 (Renal Fluid Electrolyte Physiol. 14): F322-F328, 1983.
53. DiBona, G.F., and L.L. Sawin. Renal nerve activity in conscious rats during volume expansion and depletion. *Am. J. Physiol.* 248: F15-F23, 1985.
54. DiBona, G.F. Neural mechanisms in body fluid homeostasis. *Federation Proc.* 45: 2871-2877, 1986.
55. Dickstein, G.M., J.F. Woodson, N.E. Lamb, C.E. Rose, Jr., M.J. Peach, and R.M. Cary. Escape from the sodium-retaining action of intrarenal angiotensins II and III in the conscious dog. *Endocrinology* 117: 2160-2169, 1985.
56. Dilley, J.R., A. Corradi, and W.J. Arendshorst. Glomerular ultrafiltration dynamics during increased renal venous pressure. *Am. J. Physiol.* 244 (Renal Fluid Electrolyte Physiol. 13): F650-F658, 1983.
57. Dirks, J. H., and R. A. L. Sutton; Diuretics: physiology pharmacology and clinical use.; Philadelphia; W. B. Saunders Company; 1986; pp. 86-116.
58. Dorn, T.B., N. Levine, G. Kaley, and A.B. Rothballer. Natriuresis induced by injection of hypertonic saline into the third cerebral ventricle of dogs. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 131: 240-242, 1969.
59. Dorn, J., and J.C. Porter. Diencephalic involvement in sodium excretion in the rat. *Endocrinology* 86: 1112-1117, 1970.
60. Dzielak, D.J., and R. A. Norman, Jr. Renal nerves are not necessary for onset or maintenance of DOG-salt hypertension in rats. *Am. J. Physiol.* 249 (Heart Circ. Physiol. 18): H945-H949, 1985.
61. Eisen, L. P., R.W. Harrison, and J.M. Harmon. Immunochemical characterization of the rat kidney glucocorticoid receptor. *J. Biol. Chemistry* 261: 3725-3731, 1986.
62. El Mernissi, G., and A. Doucet. Stimulation of Na⁺-K⁺-ATPase in the rat collecting tubule by two diuretics: furosemide and amiloride. *Am. J. Physiol.* 247(Renal Fluid Electrolyte Physiol. 16): F485-F490, 1984.
63. Epstein, A.N., D.M. Zhang, J. Schultz, M. Rosenberg, P. Kupsha, and E. Stellar. The failure of ventricular sodium to control sodium appetite in the rat. *Physiol. Behav.* 32 (4): 683-686, 1984.

64. Eriksson, L. Effect of lowered CSF sodium concentration on the central control of fluid balance. *Acta Physiol. Scand.* 91: 61-68, 1974.
65. Ernsberger, P., S. Azar, and M. Tarbell. Effects of preopticsuprachiasmatic lesions on renal excretion of electrolytes. *Life Sci.* 28: 1387-1390, 1981.
66. Farini, F. *Gaz. Osped.* no. 109, cited from abstract in *Wien klin. Wschr.* 26: 1867, 1913.
67. Farrel, G. III. Aldosterone chemistry and physiology. *Recent Progress Hormone Research* 15: 275-310, 1959.
68. Fisher, C., W.R. Ingram, and S.W. Ranson. Diabetes insipidus and the neuro-hormonal control of water balance. *Ann. Arbor*, 1938.
69. Francisco, L.L., L.G. Hoversten, and G.F. DiBona. Renal nerves in the compensatory adaptation to ureteral occlusion. *Am. J. Physiol.* 238: F229-F234, 1980.
70. Frank, E. *Berl. klin. Wschr.* 49, 393, 1912, citado por Verney E.B., The antidiuretic hormone and the factors which determine its release, croonian lecture. *Proc. Roy. Soc. B.* 135: 25-106, 1947.
71. Gerber J.S. Role of prostaglandins in the hemodynamic and tubular effects of furosemide. *Fed. Proc.* 42: 1707-1710, 1983.
72. Goodman-Gilman, A., y Goodman, L.S.; *Las Bases farmacológicas la terapéutica*; México; Ed. Panamericana; 1986; pp. 837-864; 1384-1411.
73. Goth, A.; *Farmacología médica*; México; Ed. Interamericanas; 1977; cap. 38: 398-409.
74. Gottschalk, C.W. Renal nerves and sodium excretion. *Ann. Rev. Physiol.* 41: 229-240, 1979.
75. Greger, R., and E. Schlatter. Presence of luminal K⁺, a prerequisite for active NaCl transport in cortical thick ascending limb of Henle's loop of rabbit kidney. *Pfluegers Arch.* 392: 92-94, 1981.
76. Greger, R., and E. Schlatter. Properties of the lumen membrane of the cortical thick ascending limb of Henle's loop of rabbit kidney. *Pfluegers Arch.* 396: 315-324, 1983.
77. Guevara, R. A. Efecto de la ingestión restringida de agua y de la sobrehidratación sobre la excreción de agua y sodio. *Gaceta Méd. Mex.* 108: 141-151, 1974.

78. Guevara R. A. El liquido extracelular y la regulaci3n central de agua y del sodio. Bol. Estud. Med. Biol. Mex. 33: 65-76, 1984\1985.
79. Guevara R.A., y J.L.Reyes S3nchez; Homeostasis; Teorias y hechos sobre la vida, los sistemas vivos; M3xico; S.M.C.F., S.E.P.; 1988; pp. 69-88.
80. Guevara, R.A., Rosas, A.M.P., Barrera, M.B., Vergara, A.P. Diuretic and natriuretic phenomena in the conscious spinal rat induced by experimental infusions of distilled water and isotonic glucose solutions into the third cerebral ventricle. 16TH Annual Meeting. Society for Neuroscience abstracts. vol 12, part 2: 1486 (399.8), 1986.
81. Guevara, R.A., Vergara, A.P., Rosas, A.M.P., and Barrera, M.B., The effect of reducing the sodium concentration into III CV. 17TH Annual Meeting. Society for Neuroscience abstracts. vol.13, part 2: 756 (203.8), 1987.
82. Gunther, B., Hodgson, G.; Fisiologia Integrativa; Chile; Ediciones de la universidad de chile; 1970; pp. 14-19; 94-99.
83. Hall, J.E., A.C. Guyton, M.J. Smith, Jr., and T.G. Coleman. Blood pressure and renal function during chronic changes in sodium intake: role of angiotensin. Am. J. Physiol. 239. (Renal Fluid Electrolyte Physiol.8): F271-F280, 1980.
84. Hall, J.E., J.P. Granger, R.L. Hester, T.G. Coleman, M.J. Smith, Jr., and R.B. Cross. Mechanisms of escape from sodium retention during angiotensin II hypertension. Am. J. Physiol. 246 (Renal Fluid Electrolyte Physiol. 15): F627-634, 1984.
85. Hall, J.E. Control of sodium excretion by angiotensin II: intrarenal mechanisms and blood pressure regulation. Am. J. Physiol. 250 (Regulatory Integrative Comp. Physiol. 19): R960-R972, 1986.
86. Harris, P.J., and L.G. Navar. Tubular transport responses to angiotensin. Am. J. Physiol. 248 (Renal Fluid Electrolyte Physiol. 17): F621-F630, 1985.
87. Heller, H. and H.F. Smirk. Studies concerning the alimentary absorption of water and tissue hydration in relation to diuresis. J. Physiol. 76 (1): 1-22, 1932.
88. Henry, J.P., O.H. Gauer, and O. Sieker. The effect of moderate changes in blood volume on left and right atrial pressures. Circulation Res. 4: 91, 1956.
89. Hensen, J., O. Hader, V. Bahr, and W. Delkers. Effect of incremental infusions of arginine vasopressin on adreno-

- corticotropin and cortisol secretion in man. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 66: 668-671, 1988.
90. Hubbard, J., and M. Kalim. Synergistic effect of molybdate plus dithiothreitol on stabilization, reactivation, and partial purification of the kidney glucocorticoid receptor. *J. Biol. Chem.* 257: 14263-14270, 1982.
 91. Jewell, P.A., and E.B. Verney. An experimental attempt to determine the site of the neurohypophysial osmoreceptors in the dog. *Phil. Trans. Roy. Soc., London, Ser. B* 240: 197-324, 1957.
 92. Kady, M.N.; Functional aspects of the renal innervation.; Ph. D. Thesis, University of London; 1974.
 93. Kaissling, B., S. Bachmann, and W. Kriz. Structural adaptation of the distal convoluted tubule to prolonged furosemide treatment. *Am. J. Physiol.* 248 (Renal Fluid Electrolyte Physiol. 17): F374-F381, 1985.
 94. Keeler, R. Natriuresis after preoptic lesions in rats. *Can. J. Physiol. Pharmacol.* 50: 561-567, 1972.
 95. Klisiecki, A., Pickford, M., Rothschild, P. and Verney, E. *B. Proc. Roy. Soc. B*, 112, 496, 1933.
 96. Knock, C.A. and H.E. Wardener. Evidence in vivo for a circulating natriuretic substance in rats after expanding the blood volume. *Clin. Sci.* 59 411-421, 1980.
 97. Knuepfner, M.M., J.S. Mohrland, R.A. Shaffer, G.F. Gebhart, A.K. Johnson, and M. J. Brody. Effects of afferent renal nerve stimulation and baroreceptor activation on unit activity in the anteroventral third ventricle region. *Red. Proc.* 39: 837, 1980.
 98. Knuepfner, M.M., and L.P. Schramm. Properties of renobulbar afferent fibers in rats. *Am. J. Physiol.* 248: R113-R119, 1985.
 99. Koop, U.C., L.A. Olsson, and G.F. DiBona. Renorenal reflex responses to mechano and chemoreceptor stimulation in the dog and rat. *Am. J. Physiol.* 246 (Renal Fluid Electrolyte Physiol. 15): F67-F77, 1984.
 100. Koop, U.C., L.A. Smith, and G.F. DiBona. Renorenal reflexes: neural components of ipsilateral and contralateral renal responses. *Am. J. Physiol.* 249 (Renal Fluid Electrolyte Physiol. 18): F507-F517, 1985.
 101. Koop, U.C., L.A. Smith, and G.F. DiBona. Facilitatory role of efferent renal nerve activity on renal sensory receptors. *Am. J. Physiol.* 253 (Renal Fluid Electrolyte Physiol. 22): F767-F777, 1987.

102. Laguna, J. y Piña, G.E.; Bioquímica; México; Ed. Fournier, 1979; pp. 732-736.
103. Lang, F., G. Messner, and W. Rehwald. Electrophysiology of sodium-coupled transport in proximal renal tubules. *Am. J. Physiol.* 250 (Renal Fluid Electrolyte Physiol. 19): F953-F962, 1986.
104. Lichardus, B., V. Jonec, and A. Strázovcová. Chronic electrolytic lesion in the posterior hypothalamus decreases natriuresis during extracellular fluid volume expansion in rats. *Endocrinol. Exp.* 3: 141-146, 1969.
105. McFarlane, M.D. A renorenal vasoconstrictor reflex induced by acetylcholine. *Am. J. Physiol.* 218: 851-856, 1970.
106. McKinley, M.J., D.A. Denton, and R.S. Weisinger. Sensors for antidiuresis and thirst-osmoreceptors or CSF sodium detectors. *Brain Res.* 141: 89-103, 1978.
107. McKinley, M.J., D.A. Denton, L. Leksell, E. Tarjan, and R. S. Weisinger. Evidence for cerebral sodium sensor involved in water drinking in sheep. *Physiol. Behav.* 25(4): 501-504, 1980.
108. McKinley, M.J., D.A. Denton, L.G. Leksell, D.R. Mouw, B.A. Scoggins, M.H. Smith, R.S. Weisinger, and R.D. Wright. Osmoregulatory thirst in sheep is disrupted by ablation of the anterior wall of the optic recess. *Brain Res.* 236: 210-215, 1982.
109. Mitchell, G.A. The nerve supply of the kidneys. *Acta Anat.* 10: 1-37, 1950.
110. Mizelle, H. L., J.E. Hall, L.L. Woods, J.P. Montani, D.J. Dzielak, and Y.J. Pan. Role of renal nerves in compensatory adaptation to chronic reductions in sodium intake. *Am. J. Physiol.* 252 (Renal Fluid Electrolyte Physiol. 21): F291- F298, 1987.
111. Moss, N.G. Renal function and renal afferent and efferent nerve activity. *Am. J. Physiol.* 243 (Renal Fluid Electrolyte Physiol. 12): F425- F433, 1982.
112. Mouw, D.R., and A.J. Vander. Evidence for brain Na receptors controlling renal Na excretion and plasma renin activity. *Am. J. Physiol.* 219: 822-832, 1970.
113. Mudge, G.H., J.W. Cooke, and W.P. Berndt. Electrolyte excretion and free-water production during onset of acute diuresis. *Am. J. Physiol. (Lond.)* 228: 1304-1312, 1975.
114. Niijima, A. Afferent discharges from arterial mechanoreceptors in the kidney of the rabbit. *J. Physiol.*

(Lond.) 219: 477-485, 1971.

115. Niijima, A. The effect of efferent discharges in renal nerves on the activity of arterial mechanoreceptors in the kidney in rabbit. *J. Physiol. (Lond.)* 222: 335-343, 1972.
116. Niijima, A. Observation on the localization of mechanoreceptors in the kidney and afferent nerve fibres in the renal nerves in the rabbit. *J. Physiol. (Lond.)* 245: 81-90, 1975.
117. Nishiitsutsuji-owo, J.M., B.D. Ross, and H.A. Krebs. Metabolic activities of the isolated perfused rat kidney. *Biochem. J.* 103: 852-862, 1967.
118. Norvell, J.E. The aorticorenal ganglion and its role in renal innervation. *J. Comp. Neurol.* 133: 101-112, 1968.
119. Olsson, K. Dipsogenic effects of intracarotid infusions of various hyperosmolal solutions. *Acta Physiol. Scand.* 85: 517-522, 1972.
120. Olsson, K., Further evidence for the importance of CSF Na⁺ concentration in central control of fluids balance. *Acta Physiol. Scand.* 88: 183-188, 1973.
121. Pappenheim, S. Arch of Anat Physiol. U. Wissensh Med 7: 534. 1840. In: DiBona, G.F. The functions of the renal nerves. *Rev. Physiol. Biochem. Pharmacol.* 94: 75-181, 1982.
122. Peck, J.W., and M.B. Elliot. Localization of thirst and antidiuretic osmoreceptors by intracranial injections in rats. *Am. J. Physiol.* 228 (5): 1501-1509, 1975.
123. Pierce, E.T., and D.R. Mouw. Localization of the cerebroventricular receptors involved in CNS- induced natriuresis. *Am. J. Physiol.* 246 (Renal Fluid Electrolyte Physiol. 15): F39-F46, 1984.
124. Pines, I.L. The electrophysiological characteristic of the afferent connection of the kidney with the central nervous system. *Sechenov Physiol. J. USSR* 46: 1622-1630, 1960.
125. Pnina, S., H. Wald, and M.M. Popovtzer. Enhanced glomerular filtration and Na⁺K⁺ATPase with furosemide administration. *Am. J. Physiol.* 252 (Renal Fluid Electrolyte Physiol. 21): F910-F915, 1987.
126. Prosnitz, E.H., and G.F. Dibona. Effect of decreased sympathetic nerve activity on renal tubular sodium reabsorption. *A.J.Physiol.* 235 (Renal Fluid Electrolyte Physiol. 4): F557-F563, 1978.

127. Puschett, J.B. Sites and mechanisms of action of diuretics in the kidney. *J. Clin. Pharmacol.* 21: 564-574, 1981.
128. Recordati, G.M., N.G. Moss, and L. Waselkov. Renal chemoreceptors in the rat. *Circ. Res.* 43 (4): 534-543, 1978.
129. Recordati, G.M., N.G. Moss, S. Genovesi, and P.R. Rogenes. Renal receptors in the rat sensitive to chemical alterations of their environment. *Circ. Res.* 46: 395-405, 1980.
130. Recordati, G.M., S. Genovesi, D. Cerati, and R. Di Cintio. Reno-renal and reno-adrenal reflexes in the rat. *Clin. Sci.* 59: 323s-325s, 1980 a.
131. Recordati, G.M., N.G. Moss, Genovesi, and P.R. Rogenes. Renal chemoreceptors. *J. Auton. Nerv. Syst.* 3: 237-251, 1981.
132. Recordati, G., S. Genovesi, and D. Cerati. Renorenal reflexes in the rat elicited upon stimulation of renal chemoreceptors. *J. Auton. Nerv. Syst.* 6: 127-142, 1982.
133. Reineck, H.J., and J.H. Stein; Mechanisms of action and clinical uses of diuretics, *The Kidney*; 2nd ed., Vol.1; Philadelphia; W.B. Saunders Co., 1981, pp. 1097-1131.
134. Robertson G.L. The regulation of vasopressin function in health and disease. *Rec. Prog. Horm. Res.* 33: 333, 1977.
135. Robertson, G.L. Thirst and vasopressin function in normal and disordered states of water balance. *J. Lab. Clin. Med.* 101 (3): 351-371, 1983.
136. Roemmelt, J.C., O.W. Artoriu, and R.F. Pitts. Excretion and reabsorption of sodium and water in the adrenalectomized dog. *Am. J. Physiol.* 159: 154, 1949.
137. Rogenes, P.R. Single-unit and multiunit analyses of renorenal reflexes elicited by stimulation of renal chemoreceptors in the rat. *J. Auton. Nerv. Syst.* 6: 143-156, 1982.
138. Ross, B.D., F.H. Epstein, and A. Leaf. Sodium reabsorption in the perfused rat kidney. *Am. J. Physiol.* 225(5): 1165-1171, 1973.
139. Rundgren, M., D.A. Denton, M.J. McKinley, and R.S. Weisinger. The dipsogenic effect of intracerebroventricular infusion of hypertonic NaCl in the sheep is mediated mainly by the Na⁺ ion. *Acta Physiol. Scand.* 127: 433-436, 1986.

140. Rydin, H., and E.B. Verney. The inhibition of water-diuresis by emotional stress and by muscular exercise. *Quart. J. Exper. Physiol.* 27: 343-375, 1938.
141. Schlatter, E., R. Greger, and C. Weidtko. Effect of high-ceiling diuretics on active salt transport in the cortical thick ascending limb of Henle's loop of rabbit kidney. *Pfluegers Arch.* 396: 210, 1983.
142. Scherzer, P., H. Wald, and M.M. Popovtzer. Enhanced glomerular filtration and Na⁺ K⁺ ATPase with furosemide administration. *Am. J. Physiol.* 252 (Renal Fluid Electrolyte Physiol. 21): F910-F915, 1987.
143. Schwartz, G.J., and M.B. Burg. Mineralocorticoid effects on cation transport by cortical collecting tubeles in vitro. *Am. J. Physiol.* 235: F576-F585, 1978.
144. Silva-Netto, C.R., M de Mello Aires, and G. Malnic. Hypothalamic stimulation and electrolyte excretion: a micropuncture study. *Am. J. Physiol.* 239 (Renal Fluid Electrolyte Physiol. 8): F206-F214, 1980
145. Silva-Netto, C.R., R.H. Jackson, and R.E. Colindres. Cholinergic stimulation of the hypothalamus and natriuresis in rats: role of the renal nerves. *Am. J. Physiol.* 250 (Renal Fluid Electrolyte Physiol. 19): F322-F328, 1986.
146. Shvalev, V.N. Problems in the morphology and nature of renal innervation. *Fed. Proc. (transl Supp)* 25: T595-T600, 1966.
147. Simon, O.R., and L.P. Schramm. The spinal course and medullary termination of myelinated renal afferents in the rat. *Brain. Res.* 290: 239-247, 1984.
148. Sklar, A.H., and R.W. Schrier. Central nervous system mediators of vasopressin release. *Physiol. Rev.* 63: 1243-1280, 1983.
149. Smith, H.W. Salt and water volume receptors. *Am. J. Med.* 21: 623-652, 1957.
150. Starling, E.B., and E.B. Verney. The secretion of urine as studied in the isolated kidney. *Proc. Roy. Soc. B.* 97: 321-361, 1925.
151. Starling, E.H.; The fluids of the body. In: *The Herter Lectures*; Chicago; W. T. Keener and Co.; 1909; p. 106.
152. Stephenson, G., M. Hammet, G. Hadaway, and J.W. Funder. Ontogeny of renal mineralocorticoid receptors and urinary electrolyte responses in the rat. *Am. J. Physiol.* 247

(Renal Fluid Electrolyte Physiol. 16): F665-F671, 1984.

153. Takeuchi, J., S. Iino, S. Hanada, S. Sakai, N. Oya, and K. Kitamura. Experimental studies on the nervous control of the renal circulation-effect of the electrical stimulation of the spinal cord on the renal circulation. *Jpn. Heart. J.* 5: 69-80, 1964.
154. Thornborough, J.R., S.S. Passo, and Rothballe, A.B. Forebrain lesion blockade of the natriuretic response to elevated carotid blood sodium. *Brain Res.* 58: 355-363, 1973.
155. Thrasher, T.N., L.C. Keil, and D.J. Ramsay. Lesions of the organum vasculosum of the lamina terminalis (OVLT) attenuate osmotically-induced drinking and vasopressin secretion in the dog. *Endocrinology* 110: 1837-1839, 1982.
156. Tomita, K., J.J. Pisano, and M.A. Knepper. Control of sodium and potassium transport in the cortical collecting duct of the rat. *J. Clinical. Invest.* 76: 132-136, 1985.
157. Uchida, Y., K. Kamisaka, and H. Ueda. Two type of renal mechanoreceptors. *Jap. Heart. J.*, 12: 233-241, 1971.
158. Ueda, H., and Y. Uchida. Afferent impulses in the renal nerves. *Jap. Heart. J.* 9: 517-519, 1968.
159. Ueda, H., Y. Uchida, and K. Kamisaka. Mechanism of reflex depressor effect by kidney in dog. *Jpn. Heart J.* 8: 597-606, 1967.
160. Ueda, H., Y. Uchida, and K. Kamisaka. Responses of renal mechanoreceptors to vasopressor substances. *Jpn. Heart. J.* 12: 347-353, 1971.
161. Verney E.B., and E.B. Starling. On secretion by isolated kidney. *J. Physiol. (Lond.)* 56: 533-538, 1922.
162. Verney, E.B. The secretion of pituitrin in mammals as shown by perfusion of the isolated kidney of the dog. *Proc. Roy. Soc.B.* 135: 25-106, 1926.
163. Verney, E.B. The antidiuretic hormone and the factors which determine its release, croonian lecture. *Proc. Roy. Soc. B.* 135: 25-106, 1947.
164. Von den Velden, R. *Berl. klin. Wschr.* 50, 2083, 1913.
165. Watkins, L., J.A. Burton Jr., E. Haber, J.R. Cant, F.W. Smith, and A.C. Barger. The renin-angiotensin-aldosterone system in congestive failure in conscious dogs. *J. Clin. Invest.* 57: 1606-1617, 1976.

168. Whelton, A. Long-term bumetanide treatment of renal edema. Comparison with furosemide. *J. Clin. Pharmacol.* 21: 591-598, 1981.
169. Wright, F.S.: Flow-dependent transport processes: Filtration, absorption, secretion. *Am. J. Physiol.* 243: F1 1982.
170. Wright, F.S.: Intrarenal regulation of glomerular filtration rate. *J. Hypertension*. 2 (Suppl. 1): 105, 1984.
171. Zimmerman, H.D. Elektronenmikroskopische Befunde zur Innervation des Nephron nach Untersuchungen an der fetalen Niere des Menschen. *Z. Zellforsch.* 129: 65-75, 1972.
172. Zimmerman, H.D. Myelinated nerve fibers in the rat kidney. *Cell Tissue Res.* 160: 485-493, 1975.