

La Serie Universitaria de la Fundación Juan March presenta resúmenes, realizados por el propio autor, de algunos estudios e investigaciones llevados a cabo por los becarios de la Fundación y aprobados por los Asesores Secretarios de los distintos Departamentos.

El texto íntegro de las Memorias correspondientes se encuentra en la Biblioteca de la Fundación (Castello, 77. Madrid-6).

La lista completa de los trabajos aprobados se presenta, en forma de fichas, en los Cuadernos Bibliográficos que publica la Fundación Juan March.

Estos trabajos abarcan las siguientes especialidades: Arquitectura y Urbanismo; Artes Plásticas; Biología; Ciencias Agrarias; Ciencias Sociales; Comunicación Social; Derecho; Economía; Filosofía; Física; Geología; Historia; Ingeniería; Literatura y Filología; Matemáticas; Medicina, Farmacia y Veterinaria; Música; Química; Teología. A ellas corresponden los colores de la cubierta.

Edición no venal de 300 ejemplares, que se reparte gratuitamente a investigadores, Bibliotecas y Centros especializados de toda España.

Este trabajo fue realizado con una beca en el Extranjero, 1972, Departamento de Medicina, Farmacia y Veterinaria.

Fundación Juan March



FJM-Uni 19-Pur
Estudios sobre la hormona Natriurética:
Purroy Unanua, Andrés.
1031749



Biblioteca FJM

Fundación Juan March (Madrid)

Estudios sobre la hormona Natriurética / Andrés Purroy Unanua

19

SERIE UNIVERSITARIA



Fundación Juan March

Estudios sobre la hormona Natriurética

Andrés Purroy Unanua

FJM
Uni-
19
Pur
19

Fundación Juan March
Serie Universitaria

19

Estudios sobre la hormona Natriurética

Andrés Purroy Unanua



Fundación Juan March
Castelló, 77. Teléf. 225 44 55
Madrid - 6

Fundación Juan March (Madrid)

Depósito Legal: M - 3308 - 1977
I.S.B.N. 84 - 70 - 75 - 038 - 0
Ibérica, Tarragona, 34.- Madrid-7

Fundación Juan March (Madrid)

I N D I C E

	Página
ESTUDIOS SOBRE LA HORMONA NATRIURETICA	1
MATERIAL Y METODOS	7
A) Preparaciones de piel de rana	7
B) Preparación del plasma	10
C) Expansión del espacio extracelular	11
D) Modificaciones en la ingesta de sodio	15
RESULTADOS	17
A) Expansión del espacio extracelular	17
B) Modificaciones en la ingesta de sodio	25
DISCUSION	33
A) Expansión del espacio extracelular	33
B) Modificaciones en la ingesta de sodio	35
BIBLIOGRAFIA	41

Relman y Schwartz (1952) fueron los primeros en de mostrar que cuando el espacio extracelular (EEC) se ex pande gradualmente por la administración prolongada de acetato de desoxycorticosterona, una disminución ini - cial en la eliminación de sodio era seguida por una re cuperación de la natriuresis a los valores control.

Este fenómeno se conoció como "escape de sodio" y ha sido posteriormente confirmado en varios experimentos. Como el GFR no cambiaba o incluso descendía, se pensó que el aumento en la eliminación de sodio era de bida a modificaciones en la reabsorción tubular. Smith (1957) sugirió la posibilidad de que una hormona natriuretica "x" pudiera estar envuelta.

En 1961 De Wardener, Mills, Clapham y Hayter mostra ron que la infusión de solución salina isotónica a pe^{rros} que estaban recibiendo mineralcorticoides y vaso-

presina, producía un aumento en la eliminación de sodio por orina. Estos hallazgos fueron confirmados por otros autores (Levinsky y Lalone en 1963; Earley y Friedler en 1964 y Rector, Giesen, Kiil y Seldin en 1964 entre otros). Posteriormente Dirks, Cirksena y Berliner (1965) demostraron que durante la infusión de solución salina, se producía un descenso en la capacidad de reabsorción tubular de sodio.

De Wardener y col. (1961) postularon la existencia de una sustancia humoral, con una vida media muy corta. Bahlmann, Mc Donald, Venton y de Wardener (1967 a) expandieron el volumen sanguíneo de perros sin cambios en la composición de la sangre y previniendo el aumento del GFR. Como uno de los riñones estaba denervado, la natriuresis que se produjo no era debida a un efecto dilucional, ni a un aumento en la tensión arterial ni a un efecto de la inervación renal.

Tobian, Coffee y Mc Crea (1967) encontraron los mismos resultados que Bahlmann y col. (1967 a) utilizando riñones de rata aislados. El aumento en la natriuresis (así como el incremento en C_{in} y C_{PAH}) lo explicaron a

través de la existencia de una sustancia hormonal. Pearce, Sonnemberg, Veress y Ackerman (1969) encontraron - que se producía natriuresis en ratas mediante la expansión del volumen sanguíneo pero únicamente en ratas previamente sobrecargadas con sal. Sin embargo Blythe, D'Avila, Gitelman y Welt (1971) no obtuvieron una natriuresis significativa tras la expansión de los perros con sangre, en contraste con los resultados obtenidos infundiendo solución salina. Asimismo Mc Donald, Schrier y Kauler (1967) en perros y Bonjour y Peters (1970) en ratas no obtuvieron una natriuresis en el animal recipiente en experimentos con circulación cruzada. Tras estos resultados era necesario encontrar un medio de ensayo - para esta sustancia.

En ratas con diabetes insípida y que habían sido hidratadas previamente, Sealey, Hirshman y Laragh (1969) obtuvieron grandes elevaciones en la excreción urinaria de sodio, cuando utilizaron extractos obtenidos de la orina y plasma tanto de hombres como de ovejas mantenidos con elevada ingesta de sal así como de enfermos con aldosteronismo primario o hipertensión.

El grupo Cort y en dos trabajos diferentes (Cort, Dousa, Pliska, Lichardus, Safarova, Vranesic y Rudinger 1968; Cort y Lichardus, 1964) utilizaron preparaciones de piel de rana como método de ensayo. Encontraron que la sangre extraída de una yugular tras la oclusión carotídea, contenía una sustancia con capacidad de disminuir la corriente de cortocircuito (SCC). El extracto plasmático que utilizaron tenía sin embargo una excesiva osmolalidad.

Eigler (1973) no pudo encontrar una diferencia en la actividad natriurética entre el plasma obtenido de un perro antes y tras la expansión con solución salina isotónica cuando utilizó preparaciones de piel de rana como método de ensayo. Nutboun, Howse, Schrier, Talner, Venton, Verroust y De Wardener (1970) prepararon un sistema donde la sangre de un perro circulaba a través de una cámara que contenía una piel de rana. Tras un periodo de estabilización el volumen sanguíneo se expandía, produciéndose un descenso en la corriente de cortocircuito de la piel y un aumento en la excreción urinaria de sodio en el perro. Lichardus, Pliska, Uhrin y Barth (1969) estudiaron el plasma obtenido de vacas, las cua

les habían sido expandidas con Dextrano. El plasma extraído tras la expansión, produjo una natriuresis en ratas anestesiadas con alcohol y una caída en la SCC de la preparación de piel de rana.

Buckalew, Martinez y Green (1970) y Buckalew y Nelson (1974) han descrito que los dializados, ultrafiltrados y fracciones de ultrafiltración, obtenidos en plasma de perro sometido a la expansión con solución salina isotónica, inhiben el transporte de sodio tanto en vejiga de sapo, como en piel de rana. Este factor humoral debe tener un peso molecular menor de 700. Asimismo señalan el hecho de que el ultrafiltrado de plasma proveniente de la vena yugular, produce una mayor reducción de la SCC que el ultrafiltrado obtenido de plasma extraído de una vena femoral. Hay que señalar que este peso molecular es bastante distinto del propuesto por Sealey y Laragh (1971) de 10.000 a 50.000.

Rector, Martinez-Maldonado, Kurtzman, Sellman, Oerther y Seldin (1968) estudiando la reabsorción proximal en ratas, encontraron que el dializado de plasma obtenido tras la expansión del EEC inhibía la reabsorción de

sodio. Sin embargo y en un estudio multicéntrico (Wright, Brenner, Bennett, Keimowitz, Berliner, Schrièr, Verroust, De Wardener y Holtgreve, 1969) no pudieron repetir los resultados a pesar de utilizar los mismos métodos.

Por otra parte Bourgoignie, Klahr y Bricker (1971) han referido que en el suero de pacientes urémicos, existe una sustancia de bajo peso molecular, con capacidad de inhibir el transporte de sodio en la piel de rana y en la vejiga de sapo. Esta fracción tendría un peso molecular menor de 1.000 y con características similares a la fracción que inhibe la toma de PAH en cortes de tejido renal cortical de conejos (Bricker, Klahr, Purkenson, Schultze, Arioli y Birge, 1968).

Poniendo en entredicho la existencia de una hormona natriurética están los experimentos, principalmente los realizados por el grupo de Earley, donde se propone que la natriuresis encontrada en la mayor parte de las expansiones, podrían ser explicadas por factores hemodinámicos y físicos.

Así pues, un punto fundamental es determinar si existe una sustancia circulante con capacidad de amen

tar la eliminación renal de sodio.

En el presente trabajo y como fase previa para posteriores estudios se ha seguido, con algunas modificaciones, los experimentos de Buckalew en lo que se refiere a la expansión del espacio extracelular. Por otra parte, se ha estudiado si las modificaciones en la cantidad de so dio de la dieta, eran seguidas por la aparición en plas ma de una actividad natriurética.

MATERIAL Y METODOS

A) Preparaciones de piel de rana

1) Ranas

Se utilizaron ranas de la especie Rana Temporalia.

Previamente a su utilización, se mantuvieron en ban dejas húmedas a 4°C y en habitación oscura. Antes de cada experimento, las ranas se mantenían durante una noche a temperatura ambiente en recipientes de agua. Inmediatamente antes de su utilización las ranas - eran muertas mediante destrucción de la médula espi nal y la piel abdominal disecada manteniendo su hu medad mediante solución Ringer. Las ranas fueron em pleadas durante las cuatro estaciones del año.

2) Aparatos

El aparato utilizado, es una modificación del original de Ussing y Zerahn (1951). La superficie de la piel en contacto con la solución Ringer era de 3,4 cm². La diferencia de potencial (PD) se medía mediante electrodos de calomelano y la corriente de cortocircuito (SCC) utilizando una corriente externa introducida en la preparación, hasta hacer cero el voltaje y a través de electrodos de plata-cloruro de plata.

La resistencia se ha calculado de la relación:

Resistencia (R) = Voltaje (V) ÷ Corriente (A) (Ferreira 1970).

Los extractos a estudiar se añadían al lado de la piel después de haber retirado un volumen similar de Ringer. No se utilizó ninguna piel cuya SCC no fuese mayor de 60µA/3,4 cm². Tras añadir el extracto, tanto la SCC como la PD se leían cada 10 minutos por espacio de 40 minutos. Los valores control se tomaron como la unidad y el cambio a los 40 minutos como su fracción F_{SCC40} . Por otra parte, la media de las

lecturas de la SCC durante los cuatro periodos de 10 minutos, se expresaba como cambio medio fraccional - en relación a los valores control ($F_{SCC\bar{x}}$). Una nomenclatura similar se utilizó con la diferencia de potencial: F_{PD40} , y $F_{PD\bar{x}}$ y con la resistencia F_{R40} , y $F_{R\bar{x}}$.

Antes de añadir el extracto, su osmolalidad y el pH se ajustaron a los de la solución Ringer.

3) Solución Ringer

Se utilizó una solución Ringer similar a la propuesta por Cereijido, Herrera, Flanigan y Curran (1964), aunque con pequeñas modificaciones:

Sodio	115	mM/L
Cloro	114,5	"
Bicarbonato	3	"
Potasio	1,5	"
Calcio	1	"
Glucosa	5,5	"

El pH era de 8,1-8,3 con un pO_2 de 160 mmHg, tras burbujeo con aire durante 10 minutos. La temperatura de la solución se mantenía constante.

B) Preparación del plasma

1) Ultrafiltración

Una vez separado el plasma de las células rojas, se mantuvo a 4°C. Los ultrafiltrados se obtuvieron a través de la membrana Diaflo (Amicon Corporation Scientific System Division, Lexington, Mass) que son filtros selectivos, dependiendo del peso y de la configuración molecular (Blatt, Hudson, Robinson y Zipiliran, 1967). Tres tipos diferentes de membranas fueron utilizadas: UM-10, UM-2 y UM-05 cuyo peso límite aproximado es de 10.000, 1.000 y 500 respectivamente.

2) Filtración fraccionada.

El plasma separado de las células rojas y mantenido a 4°C se añadía a una columna de Sephadex G25 grado medio (Pharmacia Fine Chemicals, Uppsala, Sweden). La columna era lavada a continuación con 1000 ml de solución de acetato amónico (10 mM) y el efluente recogido en fracciones de 100 ml. Con un Espectrofotómetro (Unicam SP 800 B con luz ultravioleta) se determinó la absorción (a 280 m μ)

de cada fracción, obteniéndose un patrón similar al representado en la figura 1. Todas las fracciones se mantenían a -20°C hasta ultrafiltración.

3) Liofilización.

Se obtuvo mediante un sistema de vacío, capaz de mantener una presión inferior a 10 mmHg. El liofilizado era redissuelto con agua destilada a 1/10 del volumen del plasma aplicado a la columna de Sephadex.

Tanto el ultrafiltrado como las fracciones liofilizadas y redissueltas eran ajustados, su pH y osmolaridad, a la de la solución Ringer en contacto con la superficie interna de la piel.

C) Expansión del espacio extracelular

1) Animales.

Se utilizaron 12 perras hembras normales, con un peso de 11 a 20 kg. Durante las 18 horas previas al experimento, se les privaba de comida, pero no de agua. Todos los experimentos se iniciaron a las 9 de la mañana. Durante la permanencia en la casa de los animales, se les alimentaba con una canti-

Absorción
280 m μ

mOsm/kg

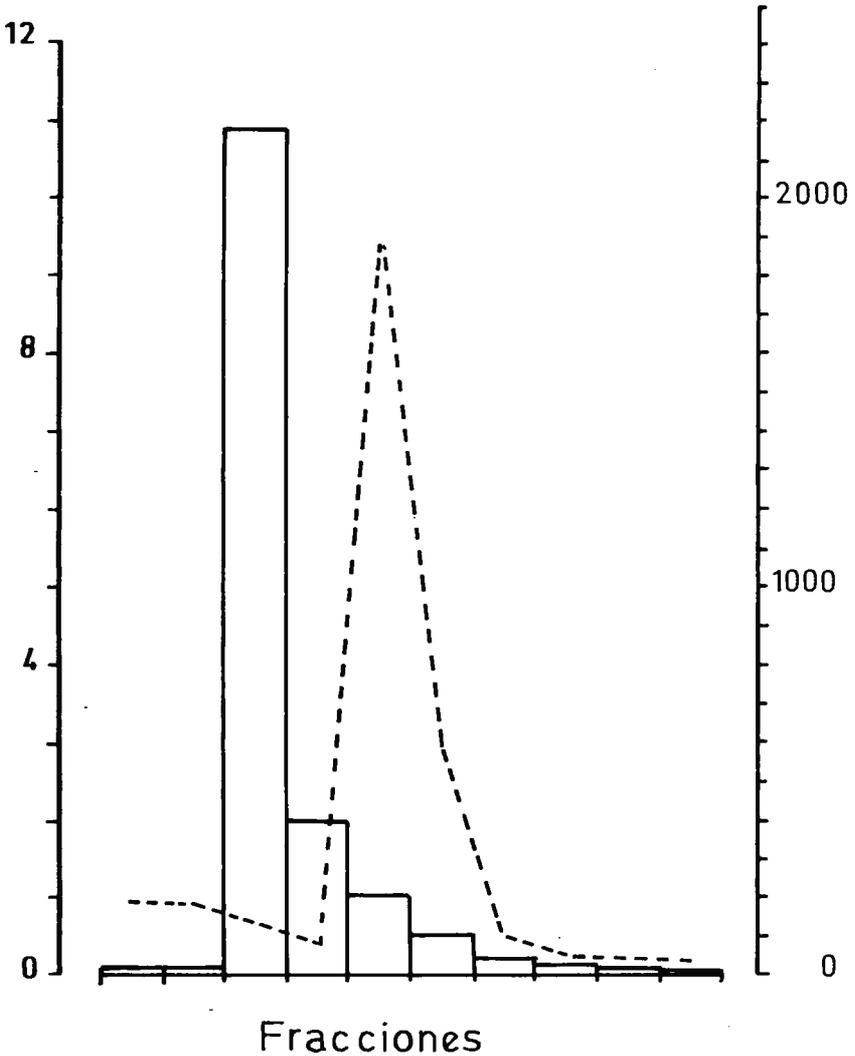


Figura 1.- Osmolalidad y Absorción de las fracciones obtenidas a través de una columna de Sephadex G25.

dad constante de una dieta comercial (Spratt's dog diet) administrada a las 10 de la mañana. La ingesta de agua - permanecía libre.

En siete perros la expansión del EEC se llevó a efecto - sin anestesia, para lo cual los perros habian sido entre nados previamente a permanecer echados sobre la mesa del laboratorio durante los experimentos. En los otros cinco, la expansión se realizó bajo anestesia general con Nembu tal (Pentobarbiton sódico) a razón de 60 mg cada 2-2,5 kg y mantenidos en respiración espontánea. En los anima- les anestesiados se utilizó 0,03 mg/kg de sulfato de - atropina por vía subcutánea, para prevenir excesivas se- creciones.

a) Colección de orina.

La orina se recogía mediante cateterización de vejiga.

b) Muestras de sangre.

Normalmente se realizaban a través de un cateter in- sertado en una vena. Una vez extraído el espacio muer to, se obtenía la muestra de sangre y su volumen reem plazado con suero salino heparinizado. La sangre era colocada inmediatamente en tubos heparinizados, agita

dos ligeramente, centrifugados, y el plasma separado y guardado a 4°C.

2) Expansión del EEC con solución salina isotónica.

La expansión del EEC se realizó infundiendo solución salina isotónica a través de la cánula venosa. Inicialmente 50 ml/kg de peso en 15 minutos y a continuación infusión continua a razón de 10 ml/min. durante 200 minutos.

En los siete perros no anestesiados, 80 ml de sangre se extraían antes de la expansión y 120 al finalizar ésta. En los otros cinco perros, se extraían 40 ml de sangre a los 60, 120 y 240 minutos del comienzo de la infusión (en este caso se prolongaba la infusión 40 minutos).

Ultrafiltrados, a través de una membrana de ultrafiltración UM-10, se obtuvieron de todas las muestras de sangre. En tres de los siete perros sin anestesiar, se preparó un ultrafiltrado a través de la membrana UM-2 y en otros tres, a través de la UM-05. La filtración fraccionada fue realizada en dos ocasiones únicamente. La concentración final del ultrafiltrado en la

solución Ringer en contacto con la piel, era aproximadamente de 1:2 y la de fracciones obtenidas de la columna de Sephadex 1:1.

La osmolalidad, sodio, potasio y pH de la solución Ringer no sufrió modificaciones significativas con la administración del ultrafiltrado.

D) Modificaciones en la ingesta de sodio

Todos los experimentos en este grupo se realizaron en cinco perros hembras, sin anestesiarse y previamente entrenados. En las 18 horas previas al experimento, se mantenían sin alimento, aunque con acceso libre al agua. Dos semanas antes se les había colocado, bajo anestesia general, una cánula de silastic en yugular externa (D.I.:2,64 mm) la cual tenía su extremo proximal cerca de aurícula derecha.

Cada perro era estudiado tras ser mantenido durante diez días con dieta elevada, normal o pobre en sodio. En la dieta normal se administraba 67 mEq/día de Na, en la elevada entre 257 y 302 mEq/día (según peso) y la pobre en sodio entre 0,55 y 0,72 mEq/día (también según peso).

La mañana previa al experimento se recogía, mediante ca teter vesical, una muestra de orina durante un periodo determinado.

Los experimentos comenzaban a las 9 am y tras poner al descubierto la cánula insertada en la yugular, se extraían 150 ml de sangre que eran distribuídos en tubos de centrifugar de plástico conteniendo heparina de litio. La sangre se centrifugaba a 2000 r.p.m. durante 30 minutos y a 4°C y una vez el plasma separado, se guardaba éste a 4°C. La ultrafiltración y filtración fraccionada, se realizó como ha sido descrita.

Una vez extraída la muestra basal se medía el EEC y el GFR mediante la inyección de D-Manitol - 1 - C¹⁴ con extrapolación a cero, lo cual ha probado ser un buen mé todo (Rampton y Ramsay, 1974).

A continuación se reintroducía la cánula yugular debajo de la piel del cuello, y se retiraban la cánula venosa y el cateter vesical, devolviendo el perro a la casa de los animales, previa estancia de 24 horas en una jaula metabólica para colección de los desechos radioactivos.

R E S U L T A D O S

A) EXPANSION DEL ESPACIO EXTRACELULAR

La infusión con suero salino isotónico fue seguida por un aumento del flujo urinario junto con una natriuresis, cloruresis y en menor grado, kaliuresis. La figura 2 muestra una respuesta típica en un perro no anestesiado. La natriuresis y sobre todo la kaliuresis, aparecen antes y precediendo al punto de máximo flujo urinario.

En el cuadro I aparecen recogidos los resultados obtenidos, empleando el ultrafiltrado UM-10, de siete perros no anestesiados antes y tras la expansión del - EEC. Se puede apreciar la falta de diferencia significativa en la inhibición de la corriente de cortocir - cuito.

En tres de los perros expandidos sin anestesia, (números 2, 6 y 7) un segundo ultrafiltrado se preparó mediante el paso del ultrafiltrado UM-10 a través de - una membrana UM-2. Este ultrafiltrado UM-2 probado - en la preparación de piel de rana, no produjo un efecto diferente que el del ultrafiltrado UM-10 (cuadro -

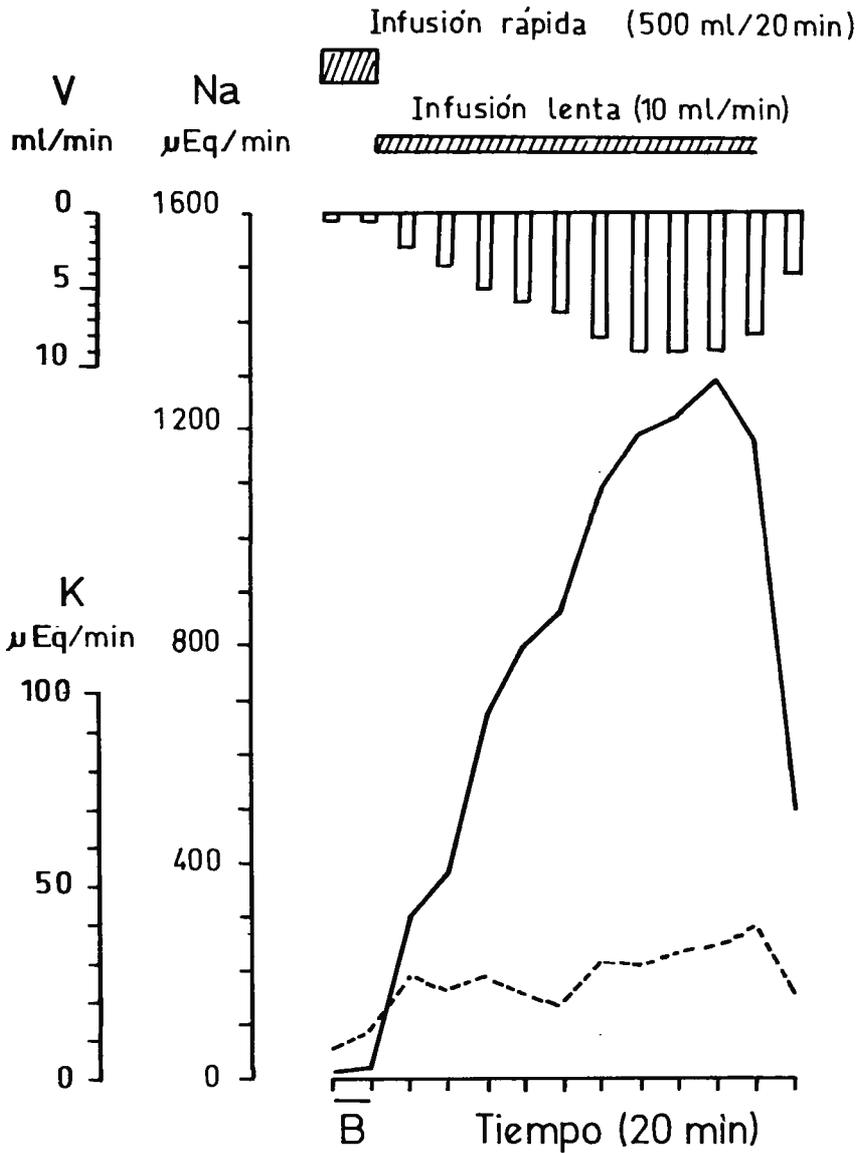


Figura 2.- Efecto de la infusión salina sobre la excreción de sodio y potasio y sobre el flujo urinario en un perro anestesiado.

Exper.	F _{PD} 40'		F _{SCC} 40'		F _{PD} \bar{x}		F _{SCC} \bar{x}	
	B	A	B	A	B	A	B	A
1	0,97	0,98	0,86	0,82	0,99	1,02	0,94	0,92
2	1,08	0,91	1,20	0,95	1,12	0,99	1,23	1,08
3	1,06	1,10	0,96	0,96	1,04	1,07	1,00	1,02
4	0,95	0,94	0,68	0,77	1,13	0,98	1,04	0,84
5	0,89	1,00	0,79	0,98	0,93	0,99	0,88	0,99
6	0,94	0,98	0,81	0,91	0,96	1,01	0,86	0,94
7	0,92	1,17	1,00	1,01	0,97	1,10	1,02	0,94
Media	0,97	1,01	0,90	0,91	1,02	1,02	1,00	0,96
S.E.	0,03	0,03	0,06	0,03	0,03	0,02	0,05	0,03
p <	0,40	0,50	0,20	0,80	0,60	0,90	0,90	0,50

Cuadro I.- Cambios fraccionales (F) en relación a valores control de la diferencia de potencial (PD), y de la corriente de cortocircuito (SCC) a los 40' así como los valores medios. La columna B corresponde al efecto del ultrafiltrado UM-10 del plasma obtenido antes de la expansión del EEC con solución salina en siete perrros no anestesiados y la columna A tras la expansión.

Exper.	$F_{PD} 40'$			$F_{SCC} 40'$		
	B	A (A)		B	A (A)	
	jug.	jug.	leg.	jug.	jug.	leg.
8	0,97	1,10	1,06	1,24	1,32	1,03
9	0,95	1,20	1,33	1,11	1,23	1,33
Media	0,96	1,15	1,20	1,18	1,28	1,18
S.E.	0,01	0,05	0,13	0,06	0,04	0,15

Exper.	$F_{PD} \bar{x}$			$F_{SCC} \bar{x}$		
	B	A (A)		B	A (A)	
	jug.	jug.	leg.	jug.	jug.	leg.
8	1,03	1,05	1,03	1,06	1,13	0,94
9	1,06	1,19	1,26	1,08	1,16	1,20
Media	1,05	1,12	1,15	1,07	1,15	1,07
S.E.	0,01	0,07	0,15	0,01	0,01	0,13

Cuadro II.- Cambios fraccionales (F) en relación a los valores control de la diferencia de potencial (PD), y de la corriente de cortocircuito (SCC) a los 40' así como los valores medios. La columna B corresponde al efecto de ultrafiltrado UM-10 del plasma obtenido de la yugular antes de la expansión del EEC con solución salina en dos perros anestesiados y la columna A tras la expansión, obtenido el plasma de la yugular (jug.) o de una pata (leg).

III).

En otros tres experimentos (números 1, 4 y 5) se compara el efecto de los ultrafiltrados UM-10 y UM-05 (cuadro IV). Aunque existe un marcado descenso en el $F_{SCC\ 40'}$ en uno de los perros, el cómputo de los resultados no muestra diferencias entre los dos ultrafiltrados.

Finalmente, en los experimentos 4 y 6, el plasma se fraccionó a través de la columna de Sephadex y se utilizaron las fracciones de bajo peso molecular. Se ve como las fracciones separadas del plasma tras la expansión, muestran incluso un aumento en $F_{SCC\ 40'}$ y $F_{SCC\ x}$ en relación a los valores previos a la expansión (cuadro V).

En los restantes cinco perros, las muestras sanguíneas se obtuvieron a los 60, 120 y 240 minutos del comienzo de la infusión, probándose únicamente el ultrafiltrado UM-10. $F_{SCC\ 40'}$ aumentó en un 20% a los 60 minutos y volvió a valores normales al final del experimento. Estos cinco perros, ponen en evidencia que no es posible encontrar una actividad natriurética en perros sometidos a la expansión del EEC, ni a la hora, ni a las dos horas, ni a las tres horas, del comienzo de la infusión.

Expt.	$F_{PD} 40'$		$F_{SCC} 40'$		$F_{PD} \bar{x}$		$F_{SCC} \bar{x}$	
	UM-10	UM-2	UM-10	UM-2	UM-10	UM-2	UM-10	UM-2
2	0,91	0,95	0,95	0,78	0,99	0,98	1,08	0,87
6	0,98	0,69	0,91	0,87	1,01	0,84	0,94	0,96
7	1,17	0,81	1,01	1,06	1,10	0,90	0,94	1,14
Media	1,02	0,82	0,96	0,90	1,03	0,87	0,99	0,99
S.E.	0,08	0,08	0,03	0,08	0,04	0,06	0,05	0,08
p <		0,30		0,50		0,20		0,90

Cuadro III.- Cambios fraccionales (F) en relación a los valores control, de la diferencia de potencial (PD) y de la corriente de cortocircuito (SCC), a los 40' así como los valores medios. Se compara el efecto - del ultrafiltrado UM-10 con aquel del - ultrafiltrado UM-2 en tres perros conscientes tras la expansión del EEC.

Expt.	$F_{PD\ 40'}$		$F_{SCC\ 40'}$		$F_{PD\ \bar{x}}$		$F_{SCC\ \bar{x}}$	
	UM-10	UM-05	UM-10	UM-05	UM-10	UM-05	UM-10	UM-05
1	0,98	0,31	0,82	0,37	1,02	0,44	0,92	0,53
4	0,94	0,69	0,77	0,78	0,98	0,79	0,84	0,93
5	1,00	0,89	0,98	1,00	0,99	0,97	0,99	1,07
Media	0,97	0,63	0,86	0,72	1,00	0,73	0,92	0,84
S.E.	0,02	0,17	0,06	0,19	0,01	0,16	0,04	0,16
p <		0,20		0,50		0,30		0,70

Cuadro IV.- Cambios fraccionales (F) en relación a los valores control, de la diferencia de potencial (PD) y de la corriente de cortocircuito (SCC), a los 40' así como los valores medios. Se compara el efecto del ultrafiltrado UM-05 en tres perros conscientes tras la expansión del EEC.

Expt.	$F_{PD\ 40'}$		$F_{SCC\ 40'}$		$F_{PD\ \bar{x}}$		$F_{SCC\ \bar{x}}$	
	B	A	B	A	B	A	B	A
4	1,07	1,05	0,95	0,97	1,03	1,04	0,97	1,00
6	0,71	0,58	0,36	0,56	0,86	0,78	0,56	0,71
Media	0,89	0,82	0,66	0,77	0,95	0,91	0,77	0,86
S.E.	0,18	0,23	0,29	0,20	0,08	0,13	0,20	0,14

Cuadro V.- Cambios fraccionales (F) en relación a los valores control de la diferencia de potencial (PD) y de la corriente de cortocircuito (SCC), a los 40' así como los valores medios. La columna B corresponde a las fracciones de bajo peso molecular (Sephadex G 25) obtenidas de plasma antes de la expansión del EEC. En la coluna A tras la expansión. Perros (2) sin anestésiar.

B) MODIFICACIONES EN LA INGESTA DE SODIO

Las modificaciones en la cantidad de sodio administrado a los perros, fue seguida por cambios en la orina, (cuadro VI). Estos resultados, corresponden a la orina coleccionada al final de cada periodo de dieta, es decir, tras diez días con dieta alta, normal o baja en sodio. Se pone en evidencia un aspecto interesante como es la capacidad del riñón de perro para retener casi todo el sodio filtrado. Con la dieta pobre en sodio, la cantidad filtrada media fue de 740,04 $\mu\text{Eq/Kg/min.}$, y la cantidad eliminada de 0,254 $\mu\text{Eq/kg/min.}$, dando una reabsorción del 99,97%.

Se produjo una diferencia significativa en la cantidad de sodio excretado entre las dietas ricas y pobres en sodio ($p < 0,01$). El aclaramiento osmolal y la relación Na^+/K^+ también mostraron una diferencia significativa entre las dos dietas ($p < 0,05$). Tanto durante el periodo de dieta rica en sodio, como cuando éste estaba restringido, el flujo urinario mostró una tendencia a aumentar, en relación con el periodo de dieta normal.

		Na ⁺ alto	Na ⁺ normal	Na ⁺ bajo
V ml/min.	\bar{x}	1,21	0,37	0,68
	S.E.	0,39	0,09	0,21
U _{Na} V Eq/Kg/min	\bar{x}	5,70	3,94	0,25
	S.E.	1,05	1,65	0,10
U _{Cl} V "	\bar{x}	4,76	3,35	0,38
	S.E.	1,35	2,11	0,11
U _K V "	\bar{x}	1,16	2,26	2,34
	S.E.	0,26	0,45	1,05
U _{osm} mOsm/kg	\bar{x}	355,40	1017,40	343,40
	S.E.	58,73	196,04	119,83
U _{Na} /U _K	\bar{x}	6,63	1,56	0,13
	S.E.	2,18	1,30	0,03
U _{osm} /P _{osm}	\bar{x}	1,17	3,39	1,12
	S.E.	0,19	0,67	0,38
C _{osm} ml/min	\bar{x}	1,15	1,04	0,54
	S.E.	0,12	0,16	0,12

Cuadro VI.- Medias y errores standard correspondientes al flujo urinario, excreciones de sodio, cloro y potasio junto a la osmolalidad, relación sodio-potasio, relación osmolalidad plasma-osmolalidad orina y aclaramiento osmolal. Estos resultados corresponden a la muestra de orina obtenida de los cinco perros, al final de los periodos sometidos a una dieta elevada, normal y baja en sodio.

Esta capacidad del riñón para regular los diferentes _
aportes de sodio en la dieta, hizo que los cambios plas
máticos no fuesen importantes. La única diferencia sig
nificativa ($p < 0,05$) fue el aumento en la concentración
plasmática de proteínas, durante el periodo de dieta ba
ja en sodio, en relación con el periodo de elevada admi
nistración de sodio. Esto podría significar un descenso
en el volumen plasmático (cuadro VII).

Era importante determinar si se producían cambios en el
volumen del fluido extracelular en relación con las die
tas. Todos los resultados se recogen en el cuadro VIII.
Incluso entre la dieta rica y la dieta pobre en sodio,
ni el volumen del EEC ni el GFR mostró una diferencia
significativa. El peso corporal si mostró una diferen
cia significativa ($p < 0,001$) siendo mayor en el grupo
con una dieta rica en sodio.

Como ha sido mencionado antes, el plasma extraído al fi
nal de cada periodo con diferente dieta, se dividía en
dos fracciones. La primera se filtraba a través de un
filtro Amicon UM-10 y la segunda se fraccionaba a tra
vés de una columna de Sephadex G25.

		Na ⁺ alto	Na ⁺ normal	Na ⁺ bajo
Sodio	\bar{x}	146,12	143,00	145,94
(mEq/L)	S.E.	1,86	1,82	3,22
Potasio	\bar{x}	4,49	4,34	4,33
(mEq/L)	S.E.	0,14	0,22	0,15
Cloro	\bar{x}	118,80	109,20	111,20
(mEq/L)	S.E.	1,59	1,28	2,11
Osmolalidad	\bar{x}	301,60	301,00	304,20
(mOsm/Kg)	S.E.	2,64	2,07	5,71
Hematocrito	\bar{x}	42,20	42,40	42,60
(%)	S.E.	0,86	1,29	1,89
Proteínas	\bar{x}	5,55	5,89	6,32
(gr/100 ml)	S.E.	0,17	0,14	0,15

Cuadro VII.- Medias y errores standard de la concentración plasmática de sodio, potasio, cloro, osmolalidad, proteínas y hematocrito. El plasma se obtuvo de cinco perros al final de los periodos sometidos a dieta elevada, normal y baja en sodio.

	EEC		Peso		GFR	
	ml/kg		Kg		ml/Kg/min.	
	Na ⁺					
Exp.	alto	bajo	alto	bajo	alto	bajo
15	267,48	223,45	12,3	11,0	4,24	4,72
16	249,77	258,49	13,0	11,9	6,26	5,83
17	240,62	257,33	16,2	15,0	3,65	4,03
18	227,10	271,18	15,5	13,6	3,81	4,30
19	298,84	292,63	14,6	13,3	6,46	5,12
Media	256,76	260,62	14,3	13,0	4,88	4,80
S.E.	12,40	11,25	0,74	0,69	0,61	0,32
p	0,60		0,001		0,90	

Cuadro VIII.- Volumen del EEC ml/kg junto con peso corporal y GFR en los cinco perros al final de los periodos con dieta alta, y baja de sodio.

Ambos, el ultrafiltrado y las fracciones de bajo peso molecular, han sido probadas en las preparaciones de piel de rana. Los resultados han sido agrupados en los cuadros IX y X y han sido expresados en la misma forma que los correspondientes a la expansión del volumen EEC, es decir, como una fracción de los valores estables previamente a la adición del ultrafiltrado o de las fracciones de Sephadex.

Aunque la diferencia en la excreción de sodio entre la dieta rica y pobre en sodio era significativa, los efectos tanto del ultrafiltrado, como de las fracciones de filtración sobre la preparación de piel de rana eran similares. El $F_{SCC\ 40}$, tras añadir el ultrafiltrado, era $0,95 \pm 0,06$ de los valores control en el grupo con dieta elevada de sodio y de $0,97 \pm 0,06$ en el grupo con dieta pobre en sodio. Algo similar sucedía con el $F_{SCC\ \bar{x}}$. Ninguna de las fracciones de bajo peso molecular (dieta con sodio alto, normal y bajo) tenían un efecto antinatriurético distinto sobre las preparaciones, sino que era parecido en los tres grupos, (los $F_{SCC\ 40}$ fueron $0,67 \pm 0,10$; $0,65 \pm 0,10$ y $0,63 \pm 0,08$ respectivamente). Un pa-

Exp.	$F_{PD\ 40'}$			$F_{SCC\ 40'}$		
	Na ⁺ alto	Na ⁺ normal	Na ⁺ bajo	Na ⁺ alto	Na ⁺ normal	Na ⁺ bajo
15	0,65	0,78	0,87	0,78	0,76	0,91
16	1,22	1,23	0,95	0,97	1,00	1,01
17	1,08	1,23	0,91	1,13	1,08	1,04
18	0,98	0,85	0,95	0,92	0,82	1,13
19	1,09	1,17	0,89	0,97	0,90	0,76
Media	1,00	1,05	0,91	0,95	0,91	0,97
S.E.	0,10	0,10	0,02	0,06	0,06	0,06

	$F_{PD\ \bar{x}}$			$F_{SCC\ \bar{x}}$		
	Na ⁺ alto	Na ⁺ normal	Na ⁺ bajo	Na ⁺ alto	Na ⁺ normal	Na ⁺ bajo
15	0,84	0,92	0,92	0,91	0,93	0,95
16	1,22	1,23	0,97	0,98	1,01	1,07
17	1,06	1,21	0,95	1,07	1,05	1,08
18	0,99	1,00	1,04	0,96	0,93	1,15
19	1,13	1,20	0,95	1,03	0,92	0,82
Media	1,05	1,11	0,97	0,99	0,97	1,01
S.E.	0,06	0,06	0,02	0,03	0,03	0,06

Cuadro IX.- Cambios fraccionales (F) en relación a los valores de la diferencia de potencial (PD) y corriente de cortocircuito (SCC) a los 40 minutos así como los valores medios. Estos resultados corresponden al efecto del ultrafiltrado UM-10 obtenidos de una muestra plasmática al final de los periodos con dieta alta, normal o baja de sodio.

Exp.	F _{PD 40'}			F _{SCC 40'}		
	Na ⁺ alto	Na ⁺ normal	Na ⁺ bajo	Na ⁺ alto	Na ⁺ normal	Na ⁺ bajo
15	1,21	0,87	0,87	1,04	0,72	0,76
16	0,82	0,81	1,00	0,74	0,74	0,85
17	0,70	0,67	0,63	0,48	0,52	0,41
18	0,78	0,86	0,60	0,59	0,80	0,47
19	0,68	0,67	0,83	0,52	0,46	0,65
Media	0,84	0,78	0,79	0,67	0,65	0,63
S.E.	0,10	0,04	0,08	0,10	0,07	0,08

	F _{PD \bar{x}}			F _{SCC \bar{x}}		
	Na ⁺ alto	Na ⁺ normal	Na ⁺ bajo	Na ⁺ alto	Na ⁺ normal	Na ⁺ bajo
15	1,23	0,94	1,01	1,05	0,82	0,87
16	0,90	0,89	1,05	0,86	0,84	0,93
17	0,82	0,79	0,78	0,63	0,71	0,60
18	0,84	0,90	0,71	0,73	0,84	0,67
19	0,84	0,77	0,93	0,68	0,58	0,82
Media	0,93	0,86	0,90	0,79	0,76	0,78
S.E.	0,08	0,03	0,07	0,08	0,05	0,06

Cuadro X.- Cambios fraccionales (F) en relación a los valores control de la diferencia de potencial (PD) y corriente de corto circuito (SCC) a los 40' así como los valores medios. Estos resultados corresponden al efecto de las fracciones de bajo peso molecular (Sephadex G25) obtenidos de una muestra plasmática al final de los periodos con dieta alta, normal o baja de sodio.

trón similar se encuentra en el $F_{SCC \bar{x}}$ ($0,79 \pm 0,08$; $0,76 \pm 0,05$ y $0,78 \pm 0,06$ respectivamente). Usando el método estadístico de la comparación por pares, únicamente la diferencia en la resistencia entre las dietas con sodio alto o bajo tiene un valor significativo, pero únicamente cuando se empleaba el ultrafiltrado UM-10 y no con las fracciones de bajo peso molecular.

DISCUSION

A) EXPANSION DEL ESPACIO EXTRACELULAR

A pesar del número de trabajos dedicados a esta materia, la existencia de una hormona natriurética es un asunto muy controvertido. Por los resultados aquí recogidos no parece probable que la expansión del volumen del EEC con solución salina isotónica se acompañe de la presencia en sangre de una hormona natriurética. Los ultrafiltrados plasmáticos obtenidos con una membrana UM-10, no produjeron ninguna diferencia significativa en la inhibición de la SCC tanto si el plasma era obtenido antes como después de la expansión. Estos resultados son contra-

díctorios a los presentados por Buckalew (Buckalew y col., 1970; Buckalew y Nelson, 1974).

Las diferencias de método que existen entre nuestro trabajo y los presentados por Buckalew y cols. no son suficientes para explicar esta discordancia de resultados. La hidropenia a la que someten a sus perros pudo producir un aumento en el nivel de ADH. Sin embargo es necesaria una concentración de 60 μ U/ml de ADH (Baba, Smith y Townshend, 1967) para producir un efecto en la piel de rana y 12-16 h; de hidropenia en un perro no parece suficiente estímulo para que la ADH sufra tan gran incremento (el valor normal de ADH en un perro es de 0'9 μ U/ml). Lo mismo cabría decir del efecto de los anestésicos que ellos utilizan ya que la adición de 30 mg/l de Pentobarbitona sódica a una preparación de piel de rana va a producir un descenso de la SCC de sólo un 4'5% (Hadfield, 1970). Sin embargo puede existir la posibilidad de que la anestesia facilite la liberación de alguna sustancia con propiedades natriuréticas o inhiba otras con características antinatriuréticas. Esta podría ser la causa de la

discrepancia existente entre los resultados de Buckalew y col. y los que en este trabajo se presentan. Otra posibilidad estaría en el peso molecular de las sustancias estudiadas. En dos de los perros de Buckalew, y tras la expansión del EEC, el ultrafiltrado UM-10 mostró un cambio en la SCC de -2% y -6%. Sin embargo muestras emparejadas de estos ultrafiltrados pasados a través de la membrana UM-05, causaron un descenso de la SCC de -22% y -29%. En nuestros experimentos, ni el ultrafiltrado UM-2 ni el UM-05 modificaron el efecto del ultrafiltrado UM-10 sobre la SCC. Estos resultados evidencian la ausencia de un factor humoral con un peso molecular entre 500 y 10.000.

Así pues, los datos expuestos en este apartado, no apoyan la idea de que la natriuresis aparecida durante la expansión del volumen del EEC en perros, se deba a una sustancia natriurética circulante.

B) MODIFICACIONES EN LA INGESTA DE SODIO

La concentración diferente en sodio de la dieta, fue seguida por importantes cambios en la excreción de -

sodio en la orina. Esto muestra la capacidad que tiene el perro para retener casi todo el sodio filtrado. Rosnagle y Farrel (1956) encontraron que en los perros mantenidos con una ingesta muy baja en sodio, se doblaba la secreción de aldosterona. La relación Na^+ / K^+ en orina de nuestros experimentos podría ser una expresión de la actividad aldosterónica elevada durante la dieta pobre en sodio.

Aunque las modificaciones en la ingesta de sal han producido cambios significativos en la excreción de sodio, no se han detectado variaciones en la actividad natriurética plasmática.

El efecto obtenido con la adición del ultrafiltrado UM-10 a las preparaciones de piel de rana, era el mismo para los tres tipos de ultrafiltrado (cuadro IX). Cuando se utilizan las fracciones de bajo peso molecular obtenidas por filtración fraccionada (las que siguen al pico salino, figura 1), se produce un descenso en la SCC ($p < 0,05$) pero similar en las tres diferentes dietas. Las diferencias entre el ultrafiltrado UM-10 y el encontrado con aquellas frac-

ciones de bajo peso molecular obtenidas por filtración fraccionada, podrían estar relacionadas con los hallazgos descritos por Buckalew y Nelson (1974). Ellos sugirieron que el efecto del plasma conteniendo un factor natriurético como consecuencia de la expansión del EEC, podría verse enmascarado por la presencia simultánea - en plasma de un factor humoral con un peso molecular - mayor de 500. Si este es el caso, existe la posibilidad de que la ausencia de tal factor podría ser responsable de algunos de los "efectos natriuréticos" descritos en la literatura.

Sin embargo, y en nuestros experimentos, está claro - que no existe una actividad natriurética en el plasma con un peso molecular por debajo de 10.000 y con la capacidad de inhibir la actividad de la bomba de sodio - en la piel de rana.

Si se aplica una infusión salina a un perro que está - bajo una continua administración de DOCA, y mostrando ya signos de escape de sodio, la natriuresis que se - presenta será mayor que en el animal control (De Wardner, 1973). Este ha sido uno de los argumentos princi-

pales en favor de una hormona natriurética, aunque el mecanismo uniendo ambos hechos sea desconocido. Se ha sugerido que se debe a una ligera pero persistente expansión del EEC. August y col. (1958) encontraron que en el hombre, el escape de sodio comenzó cuando el peso corporal aumentó de 2 a 3 kilos. El tiempo de aparición se relacionaba con la cantidad de sodio administrado durante el periodo de retención.

La falta de diferencia en la actividad natriurética entre la dieta con mucho o poco sodio por nosotros encontrada, podría estar relacionada con la similitud en el volumen del EEC, al final de cada periodo de dieta.

Con los resultados aquí descritos, no podemos apoyar - la idea propuesta por Buckalew y Lancaster (1972) de - que existe una hormona envuelta en la diaria regulación del balance sódico. Sin embargo, sus experimentos mostraron una actividad natriurética en el plasma extraí-do de perros que habían sido suplementados con mineral corticoides y esto podría haber sido importante.

En los experimentos de Sealey (Sealey y col, 1969; Sea-
ley y Laragh, 1971) la actividad natriurética se medía en ratas y encontraron que el efecto estaba relacionado

a la fracción con peso molecular de incluso 50.000 pero desde luego por encima de 10.000. La natriuresis - producida por esta sustancia se retrasaba una hora y posiblemente era debido a la depresión en la reabsorción de sodio a nivel del túbulo distal. Este retraso sugiere que su efecto podría estar mediado por un descenso o aumento de algún otro factor, aunque no a través de la ADH, pues algunas de las ratas tenían una diabetes insípida congénita.

Otro punto controvertido son los hallazgos descritos por Buckalew y Lancaster (1971). No pudieron encontrar actividad natriurética en el plasma extraído de perros sometidos a una infusión salina cuando tenían la vena cava inferior ligada. Estos perros no presentaron natriuresis.

Sin embargo Friedler, Belleau, Martino y Earley (1967) obtuvieron natriuresis en el mismo tipo de perros tras producir una vasodilatación renal.

Así pues, parece que si existe una hormona natriurética envuelta en la regulación diaria del balance de sodio, la gran diferencia en el peso molecular entre las

fracciones de Sealey y las estudiadas en nuestros experimentos, podría ser importante a la hora de interpretar los diferentes resultados. Sin embargo experimentos como los reseñados por Rosnagle y Farrel (1956) o por Friedler y col. (1967) hacen hincapié en la importancia que los cambios en la concentración de aldosterona y/o los factores hemodinámicos, podrían tener en la regulación de la excreción de sodio durante los cambios producidos en el contenido sódico de la dieta.

Así pues los resultados recogidos en el presente trabajo no apoyan la existencia de una hormona natriurética. Bien porque el método de ensayo, la piel de rana, no sea suficientemente sensible o porque el peso molecular de la sustancia sea diferente a la amplitud por nosotros estudiada o porque verdaderamente no exista dicha sustancia. Trabajos como los de Schrier, Verroust y De Wardener (1973), Keimowitz, Brenner y Berliner (1973), Wright y col (1969) entre otros, parecen apoyar nuestros resultados.

B I B L I O G R A F I A

- AUGUST, J.Y.; NELSON, H.; THORN, C.W. (1958). Response of normal subjects to large amounts of aldosterone. *J. Clin. Invest.* 37. 1549-1555.
- BABA, W.I.; SMITH, A.J.; TOWNSHEND, M.M. (1967). The effects of vasopressin, theophylline, and 3'-5' adenosine monophosphate (cyclic AMP) on sodium transport across the frog skin. *Q. Jl. exper. Physiol.* 52, 416-421.
- BAHLMANN, J.; McDONALD, S.J.; VENTON, M.G.; DE WARDENER, H.E. (1967 a). The effect on urinary sodium excretion of blood volume expansion without changing the composition of blood in the dog. *Clin. Sci.* 32, 403-413.
- BLATT, W.F.; HUDSON, B.C.; ROBINSON, ZIPILIVAN, E.M. (1967). Fractionation of protein solutions by membrane partition chromatography. *Nature* 216, 511-513.
- BLYTHE, W.B.; D'AVILA, D.; GITELMAN, H.J.; WELT, L.G. (1971). Further evidence for a humoral natriuretic factor. *Circulation Res.* 28 (Suppl. II), 21-32.
- BONJOUR, J.P.; PETERS, G. (1970). Non-occurrence of a natriuretic factor in circulating blood of rats after expansion of the extracellular or the intravascular space.

Pflugers Arch. ges. Physiol.. 318, 21-34

BOURGOIGNIE, J.; KLAHR, S.; BRICKER, N.S. (1971). Inhibition of transepithelial sodium transport in the frog skin by a low molecular weight of uremic serum. J. Clin. Invest. 50, 303-311.

BRICKER, N.B.; KLAHR, S.; PURKERSON, M.; SCHULTZE, R. G.; AVIOLI, L.V.; BIRGE, S.J. (1968). In vitro assay for a humoral substance present during volume expansion and uraemia. Nature 219, 1058-1059.

BUCKALEW, V.M.; LANCASTER, C.D. (1971). Studies of a humoral sodium transport inhibitory activity in normal dogs with ligation of the inferior vena cava. Circulation Res. 28 (Suppl. II), 44-52.

Idem (1972). The association of a humoral sodium transport inhibitory activity with renal escape from chronic mineral corticoid administration. Clin. Sci. 42, 69-78.

BUCKALEW, V.M.; MARTINEZ, F.J.; GREEN, W.E. (1970). The effect of dialysates and ultrafiltrates of plasma of saline-loaded dogs on toad bladder sodium transport. J. Clin. Invest. 49, 926-935.

- BUCKALEW, V.M.; NELSON, D.B. (1974). Natriuretic and sodium transport inhibitory activity in plasma of volume expanded dogs. *Kidney Internat.* 5, 12-22.
- CEREIJIDO, M.; HERRERA, F.C.; FLANIGAN, W.Z.; CURRAN, P.F. (1964). The influence of Na concentration on Na transport across frog skin. *J. Gen. Physiol.* 47, 879-893.
- CORT, J.H.; DOUSA, T.; PLISKA, V.; LICHARDUS, B.; SAFAROVA, J.; VRANESIC, M.; RUDINGER, J. (1968). Saluretic activity of blood during carotid occlusion in the cat. *Physiol.* 215, 921-927
- CORT, J.H.; LICHARDUS, B. (1963). The effect of cervical vagotomy and posterior hypothalamic lesions on the saluretic response to dextran infusion. *Physiol. Bohemoslov.* 12, 300-303.
- DIRKS, J.H.; CIRKSENA, W.J.; BERLINER, R.W. (1965). The effect of saline infusion on sodium reabsorption by the proximal tubule of the dog. *J. Clin. Invest.* 44, 1160-1170.
- EARLEY, L.E.; FRIEDLER, R.M. (1965). Observations on the mechanism of decreased tubular reabsorption of sodium and water during saline loading. *J. Clin. Invest.*

43, 1928-1937.

EIGLER, F.W. (1973). Personal communication in the control of sodium excretion. Handbook of Physiology, Section, Renal Physiology, p. 677. Washington: American -
Physiol. Soc.

FERREIRA, K.T.C. (1970). The effect of Cu^{++} on isolated frog skin. Biochem. Biophys. Acta 203, 555-567.

FRIEDLER, R.M.; BELLEAU, L.J.; MARTINO, J.A.; EARLEY, L. E. (1967). Hemodynamically induced natriuresis in presence of sodium retention resulting from constriction - of thoracic inferior vena cava. J. Lab. Clin. Med. 69, 565-583.

HADFIELD, D.A. (1970). Some factors affecting diuresis. D. Phil. thesis, University of Oxford.

KEIMOWITZ, R.I.; BRENNER, B.M.; BERLINER, R.W. (1973). The control of sodium excretion. Handbook of Physiology Section 8, Renal Physiology, p. 677. Washington, D.C. -
American Physiol. Soc.

LEVINSKY, N.G.; LALONE, R.C. (1963). The mechanism of - sodium diuresis after saline infusion in the dog. J. Clin. Invest. 42, 1261-1276.

- LICHARDUS, B.; PLISKA, V.; UHRIN, V.; BARTH, T. (1968). The cow as a model for investigating natriuretic activity. *Lancet* 1, 127-129.
- Idem (1969). Bioassays of the natriuretic hormone (Abstract). *Int. Congr. Nephrol.*, 4th, Stockholm, p. 372.
- MCDONALD, N.; SCHRIER, R.W.; LAULER, D.P. (1967). Effect of acute extracellular volume expansion on cross-circulated dogs. *Nephron* 4, 1-12.
- NUTBOURNE, D.M.; HOWSE, J.D.; SCHRIER, R.W.; TALNER, L. B.; VENTOM, M.C.; VERROUST, P.J.; DE WARDENER, H.E. - (1970). Effect of expanding the blood volume of the dog on the shortcircuit current across an isolated frog skin incorporated in the dog's circulation. *Clin. Sci.* 38, 629-648.
- PEARCE, J.W.; SONNENBERG, H.; VERESS, A.T.; ACKERMAN, U. (1969). Evidence for a humoral factor modifying the renal response to blood volume expansion in the rat. *Can. J. Physiol. Pharmacol.* 47, 377-380.
- RECTOR, F.C.; GIESEN, C. van; KIIL, F.; SELDIN, D.W. (1964). Influence of expansion of extracellular volume on tubular reabsorption of sodium independent of changes in glomerular filtration rate and aldosterone acti

vity. J. Clin. Invest. 43, 341-348.

RECTOR, F.C. Jr.; MARTINEZ-MALDONADO, M.; KURTZMAN, N. A.; SELLMAN, J.C.; OERTHER, T.; SELDIN, D.W. (1968).

Demonstration of a hormonal inhibition of proximal tubular reabsorption during expansion of extracellular volume with isotonic saline. Ibid, 47, 761-773.

RELMAN, A.C.; SCHWARTZ, W.B. (1952). The effect of DOCA on electrolyte balance in normal man and its relation to sodium chloride intake. Yale J. Biol. Med. 24, 540-558.

ROSNAGLE, R.S.; FARRELL, C.L. (1956). Alterations in - electrolyte intake and adrenal steroid. Am. J. Physiol. 187, 7-10.

SCHERIER, R.W.; VERROUST, P.J.; DE WARDENER, H.E. (1973) As mentioned in "The control of sodium excretion" Handbook of Physiology, Section 8, Renal Physiology, p. 677 Washington: American Physiol. Soc.

SEALEY, J.E.; KIRSHMAN, J.D.; LARAGH, J.H. (1969). Natriuretic activity in plasma and urine of salt-loaded man and sheep. J. Clin. Invest. 48, 2210-2224.

- SEALEY, J.E.; LARAGH, J.H. (1971). Further studies of a natriuretic substance occurring in human urine and plasma. *Circulation Res.* 28, Suppl. II, 32-43.
- SMITH, H.W. (1957). Salt and water volume receptore. *Am. J. Med.* 23, 623-652.
- TOBIAN, L.; COFFEE, K.; McCREA, P. (1967). Evidence for a humoral factor of non-renal and non-adrenal origin - which influences renal sodium excretion. *Trans. Ass. - Amer. Physns, Philadelphia*, 30, 200-206.
- USSING, H.H.; ZERAHN, K. (1951). Active transport of sodium as the source of electric current in the short-circuited isolated frog skin. *Ibid.* 23, 110-127.
- WARDENER, H.E. de (1973). The control of sodium excretion. *Handbook of Physiology, Section 8, Renal Physiology*, p. 677. Washington, D.C.: American Physiol. Soc.
- WARDENER, H.E. de, MILLS, I.H.; CLAPHAM, W.F.; HAYTER, C.J. (1961). Studies on the efferent mechanism of the sodium diuresis which follows the administration of intravenous saline in the dog. *Clin. Sci.* 21, 249-258.
- WRIGHT, F.S.; BRENNER, B.M.; BENNETT, C.M.; KEIMOWITZ, R.I.; BERLINER, R.W.; SCHRIER, R.W.; VERROUT, P.J.;

DE WARDENER, H.C.; HOLTGREVE, H. (1969). Failure to demonstrate a hormonal inhibition of proximal sodium reabsorption. J. Clin. Invest. 48, 1107-1113.



FUNDACION JUAN MARCH SERIE UNIVERSITARIA

Titulos Publicados:

- 1.— *Semántica del lenguaje religioso*/A. Fierro
(Teología. España, 1973)
- 2.— *Calculador en una operación de rectificación discontinua*/A. Mulet
(Química. Extranjero, 1974)
- 3.— *Skarns en el batolito de Santa Olalla*/F. Velasco
(Geología. España, 1974)
- 4.— *Combustión de compuestos oxigenados*/J. M. Santiuste
(Química. España, 1974)
- 5.— *Películas ferromagnéticas a baja temperatura*/José Luis Vicent López
(Física. España, 1974)
- 6.— *Flujo inestable de los polímeros fundidos*/José Alemán Vega
(Ingeniería. Extranjero, 1975)
- 7.— *Mantenimiento del hígado dador in vitro en cirugía experimental*
José Antonio Salva Lacombe (Medicina, Farmacia y Veterinaria. España, 1973)
- 8.— *Estructuras algebraicas de los sistemas lógicos deductivos*/José Plá Carrera
(Matemáticas. España, 1974)
- 9.— *El fenómeno de inercia en la renovación de la estructura urbana.*
Francisco Fernández-Longoria Pinazo (Urbanización del Plan Europa 2.000
a través de la Fundación Europea de la Cultura)
- 10.— *El teatro español en Francia (1935—1973)*/F. Torres Monreal
(Literatura y Filología. Extranjero, 1971)
- 11.— *Simulación electrónica del aparato vestibular*/J.M. Drake Moyano.
(Métodos Físicos aplicados a la Biología. España, 1974)
- 12.— *Estructura de los libros españoles de caballerías en el siglo XVI.*
Federico Francisco Curto Herrero (Literatura y Filología. España, 1972)
- 13.— *Estudio geomorfológico del Macizo Central de Gredos*
M. Paloma Fernández García (Geología. España, 1975)
- 14.— *La obra gramatical de Abraham Ibn ^c Ezra*/Carlos del Valle Rodriguez
(Literatura y Filología. Extranjero, 1970)

15. – *Evaluación de Proyectos de Inversión en una Empresa de producción y distribución de Energía Eléctrica.* Felipe Ruíz López (Ingeniería. Extranjero, 1974)
16. – *El significado teórico de los términos descriptivos.* /Carlos Solís Santos (Filosofía. España, 1973)
17. – *Encaje de los modelos econométricos en el enfoque objetivos-instrumentos relativos de política económica.* /Gumersindo Ruiz Bravo (Sociología. España, 1971)
18. – *La imaginación natural (estudio sobre la literatura fantástica norteamericana).* /Pedro García Montalvo (Literatura y Filología. Extranjero, 1974)

La Fundación Juan March no se solidariza necesariamente con las opiniones de los autores cuyas obras publica.

