

Papel de un factor natriurético en la natriuresis específica inducida por la infusión intraportal de salino hipertónico en perros *

M. ZUBIAUR, M. D. FERNANDEZ-MUÑOZ, M. T. MOMBIELA y J. M. LOPEZ-NOVOA.

Laboratorio de Fisiopatología Renal. Servicio de Nefrología. Fundación Jiménez Díaz. Madrid.

RESUMEN

Experiencias previas de nuestro laboratorio han demostrado que la infusión de una pequeña cantidad de salino hipertónico en la vena porta produce una diuresis y natriuresis mucho mayor que la observada cuando la misma cantidad de salino se infunde en una vena periférica.

El objetivo de los presentes experimentos fue estudiar los mecanismos que medían dicha natriuresis, en particular el papel de la denominada hormona natriurética. Para ello se hicieron dos grupos de cinco perros. A uno de ellos se infundió salino hipertónico en la vena porta y al otro en la vena cubital. Antes de la infusión y durante el momento de la máxima natriuresis se tomaron muestras de sangre suprahepática, arterial y orina. A partir de estas muestras se purificó por cromatografía de exclusión molecular la fracción en la cual está descrito que aparece la hormona natriurética. La actividad natriurética de dicha fracción fue bioensayada mediante la medida de la natriuresis que inducen en ratas despiertas, crónicamente cateterizadas y previamente uninefrectomizadas.

La orina de los perros infundidos en la vena porta tenía una actividad natriurética que no se encontró en las muestras obtenidas antes de la infusión o en las de los perros infundidos en la vena cubital. Asimismo, dicha actividad natriurética se observó en las fracciones purificadas a partir de las muestras de plasma suprahepático y arterial después de la infusión intraportal, pero no en las obtenidas antes de la misma. No hubo diferencias entre la actividad natriurética de las muestras suprahepáticas y arteriales.

De los resultados obtenidos puede deducirse que la denominada hormona natriurética parece jugar un papel importante en la natriuresis inducida por infusión intraportal de salino. Asimismo, estos resultados no apoyan el origen hepático de dicha sustancia.

Palabras clave: Hormona natriurética. Natriuresis. Sistema porta. Territorio esplácnico.

ROLE OF A NATRIURETIC FACTOR IN THE SPECIFIC NATRIURESIS INDUCED BY INTRAPORTAL INFUSION OF HYPERTONIC SALINE IN DOGS

SUMMARY

Previous experiment from our laboratory demonstrated that the infusion of small amounts of hypertonic saline into the portal vein induced diuresis and natriuresis higher than those induced by the infusion of the same amount of saline into a cubital vein.

* Este trabajo ha recibido el segundo premio Hospal, 1983.

Recibido: 31 de diciembre de 1983.
En forma definitiva: 3 de febrero de 1983.
Aceptado: 6 de febrero de 1983.
Correspondencia: J. M. López-Novoa.
Servicio de Nefrología.
Fundación Jiménez Díaz.
Avenida Reyes Católicos, 2. Madrid-3.

The purpose of the present experiments was to study the role of the so called natriuretic hormone in this phenomena. For this purpose 2 groups of 5 dogs each were infused with 855 mMol NaCl, (0.05 ml/min/kg., 20 min), one group through the portal vein and the other through the cubital vein. Samples of peripheral arterial and suprahepatic blood and urine were obtained and the fraction described to contain the natriuretic hormone purified by gel filtration chromatography. Its natriuretic activity was assayed by measuring the natriuresis induced by its infusion in conscious uninephrectomized rats.

Urine from the dogs infused with hypertonic saline into the porta showed higher natriuretic activity than those obtained before infusion a from the dogs infused into the cubital vein. Also natriuretic activity was observed in the suprahepatic and arterial plasma samples obtained after portal infusion but not in those obtained before the infusion. There were no differences in natriuretic activity between suprahepatic and arterial samples.

These results suggest that the natriuretic hormone plays an important role in the natriuresis induced by portal hypertonic saline infusion, and they do not support the hepatic origin of this substance.

Key words: Natriuretic hormone. Natriuresis. Portal system. Splanchnic area.

INTRODUCCION

La participación de un factor humoral distinto a los tradicionalmente conocidos, la denominada hormona natriurética, en la regulación del volumen extracelular, aunque todavía despierte controversias, es ya mayoritariamente reconocida¹. Sin embargo, las características físico-químicas de esta hormona, su origen y su mecanismo de acción preciso son todavía básicamente desconocidas. Trabajos previos tanto de nuestro laboratorio²⁻⁴ como de otros grupos⁵⁻¹⁰ han demostrado que la infusión de una solución salina en la vena porta induce un aumento en la natriuresis que es mayor que el inducido por una infusión similar en una vena sistémica. Se ha sugerido que este efecto podría estar mediado por un factor humoral de origen hepático^{3,10}. El objetivo del presente estudio es tratar de demostrar la participación de la hormona natriurética en la respuesta natriurética a la infusión intraportal de salino, así como su posible origen hepático.

MATERIAL Y METODOS

a) Experiencias en perros. Estas experiencias se han realizado siguiendo un protocolo de estudio similar al previamente publicado^{2,3}. En perros anestesiados con tiopental sódico (Pentotal, 40 mg/kg.) y preparados para técnicas de aclaramiento se infundió, por medio de una vena mesentérica secundaria o una arteria femoral, una solución de ClNa 855 mM (0,05 ml/min/kg. de peso, 30 min.) y se extrajeron muestras de sangre para estudio de actividad natriurética (10 ml. cada una) tanto de la vena suprahepática, mediante el catéter instalado en ella, como de la arteria femoral, antes de la infusión hipertónica intraportal y a los 60 minutos de haber comenzado dicha infusión. Asimismo, de las muestras de orina recogidas para los aclaramientos se formaron dos grupos, uno previo y otro posterior a la infusión portal.

b) Fraccionamiento de las muestras. Las muestras de sangre y de orina de estos perros se procesaron según una modificación del método de BURGOIGNIE y cols.¹¹. En resumen, las

muestras de plasma se fraccionaron en columnas cromatográficas rellenas de Sephadex G25, fino (Pharmacia Fine Chem., Suecia). Se utilizaron dos tamaños de columna K 16/100 para muestras mayores de 4 ml. y K 16/40 para muestras menores de esa cantidad. Las columnas se equilibraron y se eluyeron con acetato de amonio 10 mM, pH: 6,4. El eluido se recogió en fracciones de aproximadamente 3 ml. en un colector automático de fracciones. El volumen de exclusión (Vo) de las columnas se determinó con azul dextrano y fue de 96 y 37 ml., respectivamente. El volumen interno (Vi) determinado con ¹²⁵I fue de 200 y 84 ml., respectivamente. El flujo de eluido fue de alrededor de 20 ml/hora para la columna K 16/100 y de 35 ml/hora para la K 16/40.

Las alícuotas obtenidas del fraccionamiento se dividieron en cuatro fracciones, de acuerdo con el criterio de BURGOIGNIE y cols.¹¹.

F. I.: Contiene las moléculas de alto peso molecular.

F. III: Contiene el pico de las sales, y se caracteriza por su elevada osmolaridad y alto contenido en electrólitos.

F. II: Fracción que aparece entre la I y la III con bajo contenido en sales y proteínas.

F. IV: Fracción que aparece inmediatamente detrás del pico de las sales y en la que se ha descrito la presencia del factor natriurético¹¹ y del inhibidor del transporte de sodio¹².

La fracción IV fue inmediatamente liofilizada y el extracto seco se guardó a 20° C hasta el día del bioensayo. Ese día se resuspendió en 3,5 ml. de VINA isotónico y se bioensayo por duplicado en ratas despiertas.

c) Valoración de la actividad biológica de esta sustancia. La actividad biológica de la fracción IV de las muestras de plasma y de orina anteriormente descritas se midió mediante su efecto sobre la excreción renal de sodio en la rata. Para ello las ratas fueron unilateralmente nefrectomizadas 15 días antes de las experiencias, y sometidas a una dieta con concentración de sodio mayor de tres veces la normal. En el día de la experiencia las ratas fueron preparadas para aclaramiento según se ha descrito previamente⁴. En breve, tras ser ligeramente anestesiadas con una baja dosis de nembital (15 mg/kg.), se canuló una arteria femoral, una vena yugular y la vejiga urinaria, llevando los catéteres subcutáneamente hasta el dorso del cuello, un lugar donde no puede morderse. El catéter arterial se conectó a un transductor de presión, con una llave de doble paso para toma de muestras. A través del catéter venoso se infundió constantemente salino isotónico (1,2 ml/h.) que contenía inulina tritida para medir la tasa de filtración glomerular. La orina fue reco-

TABLA I

		Basal	30 min.	60 min.	90 min.
U_v	P	7,9 ± 0,7	15,5 ± 1,1 ^a	25,3 ± 1,9 ^a	35,1 ± 2,1 ^a
$\mu\text{l}/\text{min}/\text{kg}$.	C	8,1 ± 1,4	16,1 ± 1,4 ^a	24,3 ± 2,0 ^a	22,1 ± 1,9 ^{a,b}
U_{NaV}	P	0,71 ± 0,08	1,35 ± 0,12 ^a	1,61 ± 0,13 ^a	1,77 ± 0,13 ^a
$\mu\text{Eq}/\text{min}/\text{kg}$	C	0,79 ± 0,08	0,98 ± 0,08 ^{a,b}	1,18 ± 0,09 ^{a,b}	1,22 ± 0,11 ^{a,b}
U_{ClV}	P	0,61 ± 0,07	0,92 ± 0,08 ^a	1,10 ± 0,08 ^a	1,21 ± 0,11 ^a
$\mu\text{Eq}/\text{min}/\text{kg}$.	C	0,67 ± 0,07	0,79 ± 0,08 ^{a,b}	0,83 ± 0,08 ^a	0,79 ± 0,08 ^{a,b}
FG	P	2,12 ± 0,31	2,96 ± 0,33 ^a	3,18 ± 0,30 ^a	2,87 ± 0,31 ^a
$\text{ml}/\text{min}/\text{kg}$.	C	2,18 ± 0,16	2,22 ± 0,18 ^a	2,46 ± 0,19 ^a	2,68 ± 0,22 ^a
FPR	P	6,96 ± 0,7	7,3 ± 0,7	7,2 ± 0,7	7,2 ± 0,7
$\text{ml}/\text{min}/\text{kg}$.	C	6,91 ± 0,6	7,5 ± 0,7	7,4 ± 0,6	7,3 ± 0,6

a: $p < 0,05$ respecto al período basal; b: $p < 0,05$ respecto a los perros infundidos por la vena porta.

gida en tubos de plástico que contenían 0,5 ml. de aceite de vaselina, previamente pesados. Una vez finalizada la cirugía los animales fueron colocados en una caja que les permitía el libre movimiento hasta que estaban completamente despiertos, y su pulso y presión arterial estaban estables (por lo menos 2 horas). Entonces se hicieron tres períodos de aclaramiento basales de 30 minutos cada uno. Después se infundió 1,5 ml. de la solución de fracción IV en ClNa y se hicieron otros tres períodos de aclaramiento de 30 minutos cada uno.

El primer período experimental incluye la inyección del extracto de fracción IV (1,5 ml/15 min.) y se prolonga 15 minutos más hasta completar los 30 minutos habituales de cada período de aclaramiento.

De acuerdo con los criterios utilizados previamente por investigadores como FAVRE y cols.¹³, CLARKSON y cols.^{14, 15} y con objeto de que los resultados de nuestras investigaciones pueden ser comparables a los obtenidos por ellos, en nuestras experiencias hemos conceptualizado como «bioensayo positivo de actividad natriurética» aquellos en los cuales la rata presenta aumentos en la U_{NaV} mayores de un $\mu\text{mol}/\text{min}/100\text{ g}$. y aumentos en la FE_{Na} superiores al 1 % durante los 90 minutos posteriores al comienzo de la infusión del extracto de fracción IV.

d) Determinaciones en sangre y orina. Las concentraciones de sodio, potasio y cloro se determinaron mediante un aparato que utiliza electrodos selectivos (Stat-Ion, Technicon Inst. Corp. Tarrytown, NY). Las concentraciones de inulina y ácido paraaminohipúrico se midieron utilizando técnicas colorimétricas² y las proteínas plasmáticas por el método de LOWRY¹⁶. La osmolaridad se midió en un somómetro Fiske (Fiske Associates, Uxbridge, Mass.). Los datos han sido analizados estadísticamente mediante el test «t» de Student emparejado o no emparejado, de acuerdo con el tipo de comparación necesaria. Los datos se expresan como media + error standard de la media.

RESULTADOS

Las alteraciones de la función renal como consecuencia de la infusión intraportal o cubital de una solución de salino hipertónico en perros pueden observarse en la tabla I. El flujo urinario y las excreciones de sodio y cloro aumentaron de forma significativamente mayor en los perros infundidos a través de la porta que en los infundidos sistémicamente, sin que hubiera diferencias en el flujo plasmático renal (FPR) aunque sí en el filtrado glomerular (FG).

La respuesta natriurética a la infusión intravenosa en

rata de la fracción IV obtenida de las diversas muestras de orina de los perros infundidos con salino hipertónico está representada en la figura 1. Puede observarse que la orina obtenida antes de la infusión de salino hipertónico no tiene apenas actividad natriurética en ratas. La orina producida por los perros infundidos por la porta tiene mucha más actividad que la de los perros infundidos por una vena cubital. No hubo diferencias significativas en los cambios de filtrado glomerular de las ratas infundidas en ninguno de los extractos.

La respuesta natriurética a la infusión intravenosa en ratas de la fracción IV obtenida de los diversas muestras

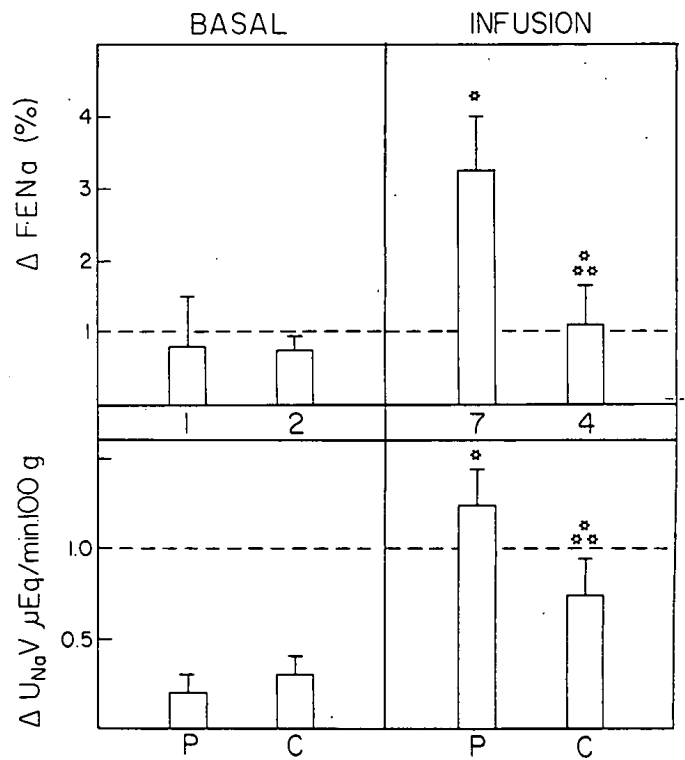


Fig. 1.—Efecto natriurético de las fracciones obtenidas de la orina de los perros en condiciones basales y después de una infusión de salino hipertónico en la vena porta (P) o en una vena cubital (C).

U_{NaV} = Excreción neta de sodio. FE_{Na} = Excreción fraccional de sodio. N = Número de bioensayos positivos. * $p < 0,05$ respecto a los valores basales. ** $p < 0,05$ respecto al grupo infundido por la porta.

de plasma de los perros infundidos en la vena porta está representada en la figura 2.

Puede observarse que la infusión de las muestras obtenidas en los perros antes de la infusión de salino hipertónico no tiene apenas efecto natriurético en las ratas, mientras que las muestras obtenidas tras la infusión portal tienen un potente efecto natriurético, no hay diferencias significativas entre las muestras obtenidas de la suprahepática y las obtenidas de la femoral periférica.

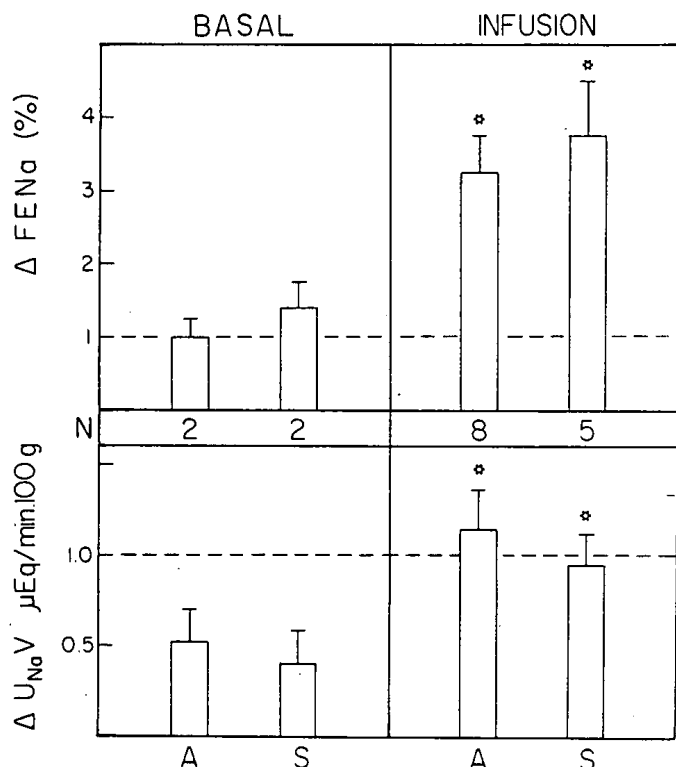


Fig. 2.—Efecto natriurético de las fracciones obtenidas de la sangre de una arteria periférica (A) o de la vena suprahepática (S) en condiciones basales y después de una infusión de salino hipertónico en la vena porta.

$U_{Na}V$ = Excreción neta de sodio. $FE Na$ = Excreción fraccional de sodio. N = Número de bioensayos positivos. * $p < 0,05$ respecto a los valores basales.

DISCUSION

Experiencias previas de nuestro laboratorio² demuestran que la infusión aguda de una pequeña cantidad de C1Na hipertónico en la vena porta de perros anestesiados produce un aumento rápido y significativo de la excreción de sodio que es superior al que se observa al infundir la misma solución en una vena cubital. Este aumento de la natriuresis se encontró asociado a un aumento del filtrado glomerular, que no se observó cuando la infusión era intracubital. Estos resultados coinciden con los de DALY y cols.¹⁰ y STRANDHOY y cols.⁵ también en perros anestesiados. Sin embargo, esta diferencia en excreción de sodio no ha sido encontrada por POTKAY y GILMORE⁹. Es posible que la utilización de un pretratamiento con mineralocorticoides y vasopresina previo a la experiencia puede situar al sistema hormonal en unas

condiciones en que el efecto de un estímulo hipertónico intraportal se vea enmascarado por estímulos más permanentes e intensos causados por el tratamiento.

En posteriores experiencias observamos que una solución con la misma concentración de cloro pero sin sodio (clorhidrato de arginina) producía también el mismo efecto de estimulación natriurética si se infundía en una vena porta. Experiencias similares con sulfato sódico no permitieron obtener ninguna conclusión debido al efecto natriurético del sulfato. El siguiente paso lógico a dar era la investigación del mecanismo que pudiera mediar esta natriuresis selectiva. Hasta ahora en la literatura se han barajado una serie de mecanismos posibles: HABERICH¹⁷ encontró que la mayor respuesta diurética postinfusión de una solución hipertónica en la porta desaparecía si seccionaban la pequeña rama hepática del nervio vago que va del estómago al hígado. Mecanismos de este tipo son apoyados por NIJIMA¹⁸, y ADACHI¹⁹ también encuentra que desaparece la respuesta después de la vagotomía. Los trabajos de electrofisiología también plantean la mediación de mecanismos nerviosos¹⁰. En síntesis, este mecanismo consistiría en que el trasvase de información entre el hígado y el riñón se haría mediante el nervio vago hepático, que integraría las señales en el SNC, posiblemente a nivel de los núcleos hipotalámicos. La conexión con el órgano efector —el riñón— podría llevarse a cabo mediante inervación renal directamente o mediante la liberación de una sustancia hormonal de acción directa sobre el riñón¹⁰.

Otra serie de investigadores no encuentran que las respuestas específicas a infusiones intraportales de C1Na hipertónico e isotónico desaparezcan con la vagotomía. Este es el caso de DALY y cols.¹⁰, STRANDHOY y col.⁵, PELMUTT y cols.⁶ y LENNANE y cols.^{7,8} por lo que sugieren que la respuesta natriurética específica después de la infusión portal está mediada por un factor humoral, de posible origen hepático, y que el estímulo para su liberación es el cambio de la concentración de Na^+ en la sangre portal. Este planteamiento viene apoyado por el hecho de que MILIES²¹ aisló y caracterizó parcialmente una proteína globular a partir de concentrados de hígado perfundido, la cual producía natriuresis y diuresis al ser inyectada en un perro.

Nosotros nos hemos centrado en el estudio de la hipótesis de la mediación de un mecanismo humoral como responsable de la natriuresis específica observada después de las infusiones hipertónicas de electrolitos en la vena porta, así como de su posible origen hepático. Por ello nos hemos planteado estudiar su presencia en la sangre que sale del hígado (SH) después de una infusión de C1Na hipertónico en la vena porta y coincidiendo con el momento de la máxima respuesta natriurética a la infusión hipertónica portal. Para ello en un trabajo previo³, el plasma de esta sangre se infundió en la arteria renal izquierda de perros anestesiados. Nuestros resultados demostraron que el plasma suprahepático, recogido después de una infusión intraportal de C1Na hipertónico

(SH₂), produce mayor natriuresis que el plasma (SH₁) recogido previamente a la infusión portal³.

De estas experiencias plantamos la hipótesis de que la infusión en la vena porta de una solución de ClNa hipertónico puede causar un aumento de la concentración de una sustancia natriurética en el plasma suprahepático. Esta sustancia podría estar presente en el hígado ya sintetizada y almacenada, y por tanto también presente en el plasma basal, de tal modo que la infusión salina portal estimula mayor liberación. Otra posibilidad es que esta infusión portal y el consiguiente aumento de la concentración de Cl y Na en la sangre, estimule la síntesis o liberación al torrente circulatorio de una sustancia, distinta de la anterior, y de acción directa sobre el riñón.

Después de las experiencias anteriormente citadas se hacía imprescindible una caracterización más precisa de la actividad natriurética presente en los plasmas SH recogidos después de la infusión hipertónica intraportal, así como estudiar si una actividad de característica similares estaba presente en el plasma sistémico y/o en la orina, coincidiendo en el tiempo con la encontrada en el plasma SH.

Para ello hemos aislado y purificado por cromatografía de exclusión molecular en columna de Sephadex G25 una fracción de la que se ha descrito que tiene un potente efecto natriurético cuando se obtiene de plasma u orina de sujetos sometidos a expansión del volumen extracelular (fracción IV)^{22, 23}.

El efecto natriurético de la fracción se bioensayó en ratas despiertas, previamente uninefrectomizadas y con una dieta de alto contenido en sodio, ya que ha sido demostrado que estos animales son especialmente sensibles a las estimulaciones natriuréticas^{30, 31}. Nuestros resultados demuestran fehacientemente que en el plasma y en la orina de los perros infundidos con ClNa hipertónico en la vena porta hay presente una importante actividad natriurética en la fracción IV extraída como anteriormente se describió, y que esta actividad no está presente en las muestras tomadas antes de la infusión portal. Otro resultado básico es que la actividad natriurética en el plasma suprahepático no es mayor que la del plasma arterial, lo que descarta prácticamente su origen hepático. El tercer resultado a destacar es la mayor actividad natriurética presente en la orina de los perros infundidos a través de la porta que en la orina de los infundidos en una vena cubital.

De estos resultados puede deducirse que hay un factor humoral, que por el volumen de elución en la cromatografía de exclusión molecular es de bajo peso molecular y que parece jugar un papel clave en el mecanismo de la natriuresis característica de la infusión portal de ClNa hipertónico. Además este factor no parece ser producido por el hígado, ni en el territorio esplácnico. Sin embargo, lo que sí parece evidente es que el hígado es el sensor que detecta los cambios en las características físico-químicas de la sangre que lo atraviesa. Entonces, ¿cuál es el mecanismo por el cual informa el hígado de estos

cambios al centro productor del factor? Como hemos discutido previamente hay una cierta evidencia de que esta información pueda ser conducida hacia el sistema nervioso central por la rama hepática del vago^{17, 20}. También se ha sugerido²⁰ que tras la integración de las señales en el SNC, posiblemente a nivel de los núcleos hipotalámicos, el mecanismo efector sería la propia inervación renal (simpática) o la liberación de una sustancia humoral de acción directa sobre el riñón²⁰. Asimismo, hay una cierta evidencia de que esta sustancia puede ser secretada por el propio hipotálamo. Así CORT²⁴ y BUCKALEW²⁵ han encontrado mayor actividad natriurética en la sangre procedente de una vena yugular que en la periférica. Otros estudios han demostrado la presencia de actividad natriurética en extractos de neurohipófisis e hipotálamo^{24, 26, 28}. Nuestros estudios no pueden más que descartar el origen hepático de este factor, de bajo peso molecular sin proporcionarnos indicios de cuál puede ser el órgano productor.

En conclusión, nuestras experiencias demuestran que la mayor natriuresis producida por la infusión hiperosmolar de ClNa hipertónico en la porta que en una vena periférica está mediada por un factor natriurético con las características físico-químicas que han sido descritas para la denominada «hormona natriurética»²⁹.

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo ha sido subvencionado en parte por una ayuda del Fondo de Investigaciones Sanitarias de la Seguridad Social y de la Fundación Iñigo Alvarez de Toledo. Durante la realización de este trabajo, M. Zubiaur era becario de la Caja de Ahorros y Monte de Piedad de Madrid, y D. Fernández-Muñoz de la Fundación Iñigo Alvarez de Toledo. Agradecemos a I. Navajos su colaboración en la mecanografía del manuscrito.

BIBLIOGRAFIA

1. DE WARDENER, H. E.: «The control of sodium excretion». *Am. J. Physiol.*, 235: F163-F168, 1978.
2. ZUBIAUR, M.; FRUTOS, M. A.; PECES, R.; MOMBIELA, M. T.; LOPEZ-NOVOA, J. M., y HERNANDO, L.: «Enhanced natriuretic response after hypertonic NaCl infusion into splanchnic area of anesthetized dogs». *Medicina*, 40: 560-568, 1980.
3. ZUBIAUR, M.; PECES, R.; MOMBIELA, M. T.; LOPEZ-NOVOA, J. M., y HERNANDO, L.: «Study on the natriuretic activity on the natriuretic activity in the suprahepatic plasma after portal hypertonic NaCl infusion in dogs». *Acta. Physiol. Latinoam.*, 31: 129-137, 1981.
4. LOPEZ-NOVOA, J. M., y ZUBIAUR, M.: «Splanchnic control of renal electrolyte excretion in conscious rats». *Min. Electrolyte Metab.*, 8: 52-60, 1982.
5. STRANDHOY, J. W., y WILLIAMSON, H. E.: «Evidence for an hepatic role in the control of sodium excretion». *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 133: 419-422, 1970.
6. PERLMUTT, J. H.; AZIZ, O., y HABERICH, F. J.: «A comparison of sodium excretion in response to infusion of isotonic saline into the vena porta and vena cava of conscious rats». *Plügers Arch.*, 357: 1-14, 1975.
7. LENNANE, R. J.; CAREY, R. M.; GOODWIN, T. J., y PEART, W. S.: «A comparison of natriuresis after oral and intravenous sodium loading in sodium depleted man: evidence for a gastrointestinal or portal monitor of sodium intake». *Clin. Sci. Mol. Med.*, 49: 437-440, 1975.
8. LENNANE, R. J.; PEART, W. S.; CAREY, R. M., y SHAW, J.: «A comparison of natriuresis after oral and intravenous sodium loading in sodium-depleted rabbits: evidence for a gastrointestinal of portal monitor of sodium intake». *Clin. Sci. Mol. Med.*, 49: 433-436, 1975.
9. POTKAY, S., y GILMORE, J. P.: «Renal responses to vena cava and portal venous infusions of sodiums chloride in unanaesthetized dogs». *Clin. Sci.*, 39: 13-20, 1970.
10. DALY, J. J.; ROE, J. W., y HORROCKS, P.: «A comparison as sodium excretion following the infusion of saline into systemic and por-

- tal veins in the dogs: Evidence for a hepatic role in the control of sodium excretion». *Clin. Sci.*, 33: 481-487, 1967.
11. BURGOIGNIE, J. J.; HWANG, K. H.; ESPINEL, C.; KLAHR, S., y BRICKER, N. S.: «A natriuretic factor in the serum of patients with chronic uremia». *J. Clin. Invest.*, 51: 1514-1527, 1982.
 12. DE WARDENER, H. D.: «The natriuretic hormone». *Proc. 8th Int. Congr. Nephrol.* Athens, 1981, 47.
 13. FAVRE, H.; HWANG, K. H.; SCHMIDT, R. W.; BRICKER, N. S., y BURGOIGNIE, J. J.: «An inhibitor of sodium transport in the urine of dogs normal renal function». *J. Clin. Invest.*, 56: 1302-1311, 1975.
 14. CLARKSON, E. M.; SEELAGH, M.; RAW, S. M., y DE WARDENER, H. E.: «Two natriuretic substances in extracts of urine from normal man when salt-depleted and salt-loaded». *Kidney Int.*, 10: 381, 1976.
 15. Clarkson, E. M.: «Further observations on the natriuretic substances occurring in the urine of normal humans». In: *Natriuretic hormone*. Kramer, H. J.; Kruck, F. (eds.). Springer-Verlag, 1975. Berlin Heidelberg-New York. p. 35.
 16. LOWRY, O. H.; ROSEBROUGH, N. J.; FARR, A. L., y FANDALL, R. J.: «Protein measurement with the Folin phenol reagent». *J. Biol. Chem.*, 73: 265-275, 1951.
 17. HABERICH, F. J.: «Osmoreception in the portal circulation». *Fed. Proc.*, 27: 1137-1141, 1968.
 18. NIJIMA, A.: «Afferent discharges from osmoreceptors in the liver of the guinea pig». *Science*, 166: 1519, 1969.
 19. ADACHI, A.; NIJIMA, A., y JACOBS, H. L.: «An hepatic osmoreceptor mechanism in the rat: electrophysiological and behavioral studies». *Am. J. Physiol.*, 231: 1043-1048, 1976.
 20. SAWCHENKO, P. E., y FRIEDMAN, M.I.: «Sensory functions of the liver a review». *Am. J. Physiol.*, 326: R5 - R20, 1979.
 21. MILIES, E.: «A new diuretic factor of hepatic origin». *Acta Physiol. Latinoam.*, 10: 178-193, 1960.
 22. BUCKALEW, V. M., y LANCASTER, C. D. Jr.: «The association of a humoral sodium transport inhibitory activity with renal escape from chronic mineralocorticoid administration in the dog». *Clin. Sci.*, 42: 69-78, 1972.
 23. BUCKALEW, V. M. Jr., y NELSON, D. B.: «Natriuretic and sodium transport inhibitory activity in plasma of volume expanded dogs». *Kidney Int.*, 5: 12-32, 1974.
 24. CORT, J. H.: «The source and chemical nature of the natriuretic activity of plasma evoked by saline "volume reflexes"». *Can. J. Physiol. Pharmacol.*, 46: 325-329, 1968.
 25. BUCKALEW, V. M.; MARTINEZ, F. J., y GREEN, W. E.: «The effect of dialysates and ultrafiltrates of plasma of saline-loaded expanded dogs on toad bladder sodium transport». *J. Clin. Invest.*, 49: 926-935, 1970.
 26. GITELMAN, H. J., y BLYTHE, W. B.: «Isolation of a natriuretic factor from the posterior pituitary». *Abstr. Vth Int. Congr. Nephrol.*, 1972, p. 91.
 27. QUAMME, G.; DIRKS, H., y FRIESEN, H. G.: «Natriuretic effects of posterior pituitary extracts in rats». *Clin. Res.*, 21: 703, 1973.
 28. HAUPERT, G. T., y SANCHO, J. M.: «Sodium transport inhibitor from bovine hypothalamus». *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*, 76: 4658-4660, 1979.
 29. DE WARDENER, H. E.: «Natriuretic hormone». *Clin. Sci. Mol. Med.*, 53: 1-8, 1977.
 30. FINE, L. G.; BURGOIGNIE, J. J.; WEBER, H., y BRICKER, N. S.: «Enhanced end organ responsiveness of the uremic kidney to the natriuretic factor». *Kidney Int.*, 10: 364-372, 1976.
 31. EPSTEIN, M.; BRICKER, N. S., y BURGOIGNIE, J. J.: «Presence of a natriuretic factor in urine of normal men undergoing water diuresis». *Kidney Int.*, 13: 152-158, 1978.