

029285



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA
DE SAN LUIS POTOSÍ
FACULTAD DE MEDICINA



El aumento de la Presión Hidrostática Intersticial Renal durante
Expansión salina es independiente de la hemodilución, de la
pérdida de la autorregulación y del aumento del
Flujo Sanguíneo Medular Renal

TESIS QUE PRESENTA

I.E. Juan Humberto Morales Loredo

Para obtener el grado de

MAESTRO EN CIENCIAS

Posgrado en Ciencias Biomédicas Básicas

UASLP

DIRECTOR DE TESIS
DR. MANUEL RODRÍGUEZ MARTÍNEZ

ASESORES INTERNOS
DR. SERGIO SÁNCHEZ-ARMASS ACUÑA

DR. ULISES MEZA VILLANUEVA

Ulises Meza.

CRÉDITOS INSTITUCIONALES

Este trabajo fue realizado en el Laboratorio de Fisiología Integrativa del Departamento de Fisiología de la Facultad de Medicina de la Universidad Autónoma de San Luis Potosí, bajo la dirección del Dr. Manuel Rodríguez Martínez.

El desarrollo de la presente tesis fue apoyado a través de los proyectos CONACYT 62282 y del Fondo de Apoyo a la Investigación (FAI) de la UASLP Convenio No. 07-FAI-11-14.50

El Consejo Potosino de Ciencia y Tecnología COPOCyT otorgó un complemento económico del fondo de apoyos especiales para el pago de colegiaturas el mes de mayo de 2006 con Folio No. 116.

Tesis que presenta.

I.E. Juan Humberto Morales Loredo

Para obtener el título de Maestro
En Ciencias Biomédicas Básicas

DIRECTOR DE TESIS

Dr. Manuel Rodríguez Martínez

ASESORES INTERNOS

Dr. Sergio Sánchez-Armass Acuña
Dr. Ulises Meza Villanueva

JURADO

Dr. Manuel Rodríguez Martínez
Dr. Sergio Sánchez-Armass Acuña
Dr. Ulises Meza Villanueva

Diciembre de 2008

AGRADECIMIENTOS

Esta tesis de maestría fue realizada en el Laboratorio de Fisiología Integrativa del Departamento de Fisiología de la Facultad de Medicina de la Universidad Autónoma de San Luis Potosí, bajo la dirección del Dr. Manuel Rodríguez Martínez, no hubiera sido posible sin la colaboración sinérgica de muchas personas a quienes expreso un sincero agradecimiento.

Quiero comenzar por agradecer a Maria Dolores Brito por su iniciarme en el procedimiento quirúrgico, por su apoyo y observaciones en el protocolo, preparación de hormonas e instrucción durante el primer año del desarrollo de esta tesis. De igual manera quiero expresar mi gratitud al Ing. Juan Francisco López, por todo su apoyo: con los cortes histológicos, por transmitirme sus conocimientos de la metodología de las tinciones, por el apoyo con el instrumental y por coordinar el cuidado integral de los animales durante todo el desarrollo de este proyecto. También quiero agradecer a la M. en C. Adriana S. Rodríguez sus observaciones, apoyo en el laboratorio y la transmisión de conocimientos clave del modelo. A Goyita Escobedo le agradezco su apoyo con el mantenimiento del instrumental y en general. A la M. en C. Miriam Z. Calvo le agradezco su apoyo con la administración y su trabajo en el laboratorio así como su apoyo durante los cursos de maestría. En conjunto la interacción con estos colegas me fué muy grata fruto de un excelente trabajo en equipo.

A la M en C. Silvia Martín Pérez agradezco el instruirme en el registro de la presión hidrostática y todo su apoyo.

Al Dr. Rogelio Graillet y al Dr. Martín Sánchez, quiero reconocer la invitación y apoyo otorgado en los cursos de cirugía. A la Enf. Carmen Morquecho por todo su ayuda en general y adiestramiento técnico-quirúrgico.

A la Sra. Erika Valdes por el soporte brindado en suministros de oficina y tanto ella como la Sra. Claudia Álvarez en la biblioteca y ambas en el copiado. A la Enf. Tere Márquez por todo el apoyo brindado en cada trámite a través de la secretaria de la coordinación del Posgrado. A la Lic. Gabriela Martínez y Dr. Guillermo Stevens por todo su apoyo brindado en la oficina de Posgrado de la Facultad.

A: Juan Manuel Ramiro, Yamilette Licón, Sergio Zarazua, Ázrael Rangel, Jesús Castillo, David Alfaro, David Torres, Catalina Romero y Carmen Toro, por todo su apoyo y solidaridad.

A la Dra. Esther Jiménez y el Dr. Roberto González por el financiamiento otorgado para el inicio y sus observaciones durante los cursos de Maestría.

A los miembros de mi comité tutelar: al Dr. Sergio Sánchez-Armass Acuña por su asesoría, instrucción, apoyo y sus tan ilustrativas discusiones académicas. Al Dr. Ulises Meza Villanueva le vuelvo agradecer, el haber inculcado en mí el quehacer de la investigación biomédica, su asesoría, correcciones, apoyo financiero y en general todo su apoyo durante la maestría y el desarrollo de esta tesis.

A mis padres Humberto y Tina por su importante apoyo, enseñanzas, manutención y cuidados, en todas pero principalmente en esta etapa de mi vida, así como también a mi hermana Claudia y a Carlos Calzada les agradezco todo la ayuda brindada

A mi hermano Gustavo agradezco su solidaridad, apoyo y participación en la instrucción y diseño asistido por computadora del ocluser aórtico.

Al M.A. Peter Mandeville agradezco toda su ayuda, donaciones y financiamiento, pero principalmente su instrucción durante los cursos de maestría.

A Rita Morán Zendejas expreso mi gratitud por el financiamiento para la titulación. Y de manera muy, especial por su compañía, paciencia, comprensión, respaldo y motivación.

Quiero expresar mi admiración y agradecimiento a mi hermano Luis Fernando, por todo el apoyo que me ha brindado siempre. Además por su patrocinio, siendo mi principal padrino financiero durante todo el desarrollo de este proyecto.

De nueva cuenta y de manera muy especial agradezco al Dr. Rogelio Graillet además de su instrucción, por su desinteresada colaboración y todas sus atenciones y cuidados en la cirugía que me practicó, apoyo sin el que no hubiera sido posible la realización de este proyecto.

Finalmente me gustaría hacer un atento reconocimiento a Manuel Rodríguez Martínez, por permitirme desarrollar este proyecto bajo su dirección y con toda la extensión de la palabra: su tutoría. Y hacer expresa mi gratitud por: su confianza, paciencia, tiempo, recursos y financiamiento dedicados en el desarrollo de esta tesis y en transmitirme sus conocimientos, pero principalmente por promover en mí el quehacer de la investigación científica, la calidad y la disciplina integral.

ABREVIATURAS

δ	= Diferencia del Valor Periodo de Interés – el Valor Control
% δ	= Razón del (Periodo de Interés - Control / Control) * 100
η	= Viscosidad
BA	= Muestra Basal
BEME	= Banda externa de la médula externa
BIME	= Banda interna de la médula externa
CC	= Conducto colector
CCPG	= Cortos circuitos periglomerulares
cP	= centi Poise
CT0	= Control 0
CTA	= Control A
CTB	= Control B
EAll	= Expansión con Albúmina Iso-oncótica Isotónica
E	= Expansión
EE	= Error Estandar
ESI	= Expansión Salina Isotónica = Expansión con solución salina isotónica
FLD	= Flujiometría Laser Doppler
FSR	= Flujo Sanguíneo Renal Global
FSCR	= Flujo Sanguíneo Cortical Renal
FSMR	= Flujo Sanguíneo Medular Renal
Ht	= Hematocrito
i.v.	= Intravenoso
L-NAME	= N ^ω -Nitro-L-arginine methyl ester
ME	= médula externa
MI	= médula interna
OA	= Ocluso Áortico
ON	= Óxido Nítrico
OVR	= Oclusión de la Vena Renal
p.c.	= Peso Corporal
PAH	= Para-Amino-Hipurato
PAM	= Presión Arterial Media
PDDAH	= Porción descendente delgada del asa de Henle
PE	= Post-Expansión
PHIR	= Presión Hidrostática Intersticial Renal
P-N	= Presión Natriuresis
PNA	= Péptido Natriurético Auricular
PRTP	= Porción recta del túbulo proximal
PPR	= Presión de Perfusión Renal
[Pr]p	= Concentración de proteínas plasmáticas
R	= Resistencia al flujo sanguíneo
s	= segundos
SON	= Sintasa de Óxido Nítrico
UNaV	= Excreción urinaria de sodio
U _{NOx} V	= Excreción urinaria de nitritos y nitratos
Uosm	= Osmolaridad urinaria
UA	= Unidades Arbitrarias
VRA	= Vasa recta ascendente
VRD	= Vasa recta descendente
Z	= Resistencia Vasculár (Hindrance)

RESUMEN

Antecedentes: Está bien establecido que el aumentar la presión de perfusión renal (PPR) induce aumento en la excreción urinaria de sodio (natriuresis) y agua (diuresis). Este fenómeno de presión-natriuresis es una característica intrínseca al riñón que participa en la regulación de la presión arterial a largo plazo a través de controlar la excreción urinaria de sodio. Un evento central dentro del fenómeno de presión-natriuresis es la relación también directa entre la PPR y la presión hidrostática intersticial renal (PHIR). La sensibilidad de ambas relaciones se ve modificada por el estado del volumen líquido extracelular, viéndose atenuadas en hidropenia (H) pero amplificadas en expansión salina isotónica (ESI). También, ambas relaciones suceden bajo condiciones de autorregulación hemodinámica renal global, por lo que se ha propuesto que la respuesta natriurética y diurética al aumento de PPR ocurre por inhibición de la reabsorción tubular del sodio y el agua filtrados, inducida por el aumento en PHIR. Entonces, el estudiar los mediadores de la relación PPR-PHIR resulta fisiopatológicamente relevante. Dentro de los mediadores que pudieran explicarla se han descartado los factores corticales y se ha redirigido la atención a factores medulares. Bajo condiciones de hidropenia, se ha demostrado tanto en perros como en ratas que el flujo sanguíneo medular renal (FSMR) se autorregula de manera eficiente y no obstante ello, el aumento en la PPR induce aumento en PHIR. Bajo hidropenia también se ha demostrado que la inhibición de la SON renal hace que se pierda la relación PPR-PHIR en el perro y que disminuya el FSMR y la PHIR en la rata. Por otro lado, bajo condiciones de ESI el escenario es diferente e incierto. En la rata, pero no en el perro, se ha documentado la pérdida de autorregulación del FSMR, por lo tanto, que ello explica el aumento en PHIR cuando aumenta la PPR. Sin embargo, en ninguna de las 2 especies se ha explorado el que un aumento absoluto en FSMR sea el mediador del aumento de PHIR cuando aumenta la PPR.

Hipótesis General: La disminución de la resistencia vascular medular renal con el consecuente aumento del FSMR contribuye al aumento de PHIR inducido por ESI

Hipótesis Específica: Que la reducción del FSMR y la recuperación de la autorregulación del FSMR inducida por la inhibición de SON medular renal, atenuaría el aumento de PHIR en respuesta a la ESI y disminuiría la pendiente de la relación PPR-PHIR.

Material y Métodos: En dos grupos de ratas Wistar macho anestesiadas, con denervación renal, bajo clamp hormonal (excepto PNA) y con o sin infusión intramedular renal de L-NAME se les evaluó el Ht, la [Pr]p, el FSMR, la PHIR y la PPR antes (Hidropenia = H), durante (Expansión = E) e inmediatamente después (Postexpansión = PE) de la ESI (2.5 % del peso corporal), manteniendo controlada la PPR (100 mmHg). En H y en PE se generaron también relaciones PPR-FSMR (para evaluar autorregulación de FSMR) y PPR vs PHIR.

Diseño Experimental: Estudio experimental longitudinal agudo siendo la rata Wistar la unidad experimental. La estructura de tratamiento fue un factorial grupo x tiempo, 2 x 3 ó 2 x 4, siendo los dos grupos: (sin L-NAME/hidropenia/ESI, con L-NAME/hidropenia /ESI. Cada tratamiento tuvo 15 replicaciones y la estructura del diseño fue completamente al azar con seguimiento en espiral según los experimentos completados.

Análisis: Modelaje de efectos fijos del tipo regresión múltiple o ANCOVA sufriendo transformación Box-Cox cuando fue necesario para satisfacer criterios paramétricos. Cursos temporales se analizaron por MANOVA con mediciones repetidas en factor tiempo o PPR. Se realizó análisis bivariado cuando fue necesario, nivel de alfa impuesto = 0.05.

Resultados y Conclusiones: Los resultados indican que en la rata Wistar bajo hidropenia, son determinantes de la PHIR: el FSMR (directo) y la [Pr]p (inverso), sin embargo, bajo ESI: ni la hemodilución, ni la pérdida de autorregulación hemodinámica, ni el aumento del flujo sanguíneo medular renal explican el aumento de PHIR, sugiriendo la participación de un mecanismo extrarenal. Se propone que es el aumento en la concentración plasmática de péptido natriurético auricular, el que al aumentar la permeabilidad de los vasa recta a las proteínas aumenta la PHIR en ESI.

ANTECEDENTES

El fenómeno de presión-natriuresis es una característica intrínseca al riñón, que puede ser demostrado en el riñón aislado y perfundido. Los mecanismos que lo explican no se han dilucidado del todo, ya que la elevación de la presión arterial puede aumentar la excreción urinaria de sal y agua en la ausencia de cambios medibles en flujo sanguíneo renal y/o filtración glomerular global, es decir, que el fenómeno se observa bajo condiciones de autorregulación hemodinámica renal global. Por lo tanto se ha propuesto que la respuesta natriurética y diurética al aumento de presión arterial ocurre por inhibición de la reabsorción tubular del sodio y el agua filtrados. La sensibilidad del fenómeno presión-natriuresis se ve modificado por el estado de volumen extracelular, de manera que se ha recurrido al uso de modelos extremos como son el de hidropenia y el de expansión del volumen extracelular para caracterizar el fenómeno y tratar de entenderlo (Cowley AW, 1992).

Estudios previos en perros y ratas hidropénicos han documentado que cambios en la presión de perfusión renal (PPR), dentro del rango de autorregulación, están asociados con cambios de presión hidrostática intersticial renal (PHIR) (Granger JP y col 1988; García-Estañ J y col 1989). Esto ha llevado a proponer que dichos cambios de PHIR contribuyen al control de la función reabsorptiva tubular a través de modificar el ambiente autacoide intersticial renal (Cowley AW, 1997). El mecanismo responsable de los cambios de PHIR inducidos por cambios en PPR ha resultado difícil de escudriñar, debido a que el flujo sanguíneo renal global (FSR) y la presión hidrostática en los capilares peritubulares corticales son eficazmente autorregulados cuando la PPR se modifica dentro del rango autorregulatorio (Cowley AW, 1992). Este hecho, ha hecho redirigir la atención hacia la circulación medular renal.

Marchand y col en 1977 documentaron en el perro hidropénico, que sólo los vasodilatadores renales que elevaban la PHIR, tales como son la acetilcolina y la bradicinina, pero no la secretina, incrementaban la excreción urinaria de sodio. Posteriormente, Fadem SZ y col (1982) confirmaron lo anterior en el perro hidropénico, pero además mostraron que sólo acetilcolina y bradicinina aumentaban el flujo sanguíneo papilar renal. Este hecho hizo sugerir una relación causal entre el aumento en FSMR y el aumento en PHIR.

Estudios realizados en perros y ratas hidropénicas (Majid DSA y col 1997; Mattson LD y col 1993) han demostrado que el FSMR se autorregula de manera

eficiente y no obstante ello, el aumento en la PPR induce aumento en PHIR, aunque cabe mencionar que al menos en las ratas hidropénicas la pendiente de esta relación está substancialmente reducida cuando se compara con la rata expandida de volumen. Desafortunadamente, no se ha generado evidencia en el perro que demuestre comparativamente lo mismo.

En consonancia con los estudios de Marchand y col (1977) y de Fadem SZ y col de (1982), más recientemente Majid DSA y col (1998) mostraron en perros hidropénicos, que la administración intrarenal de agentes vasodilatadores que propician la liberación de ON (acetilcolina y bradisinina) aumenta la PHIR, mientras que agentes vasodilatadores renales que no implican a cGMP como un segundo mensajero (secretina) son incapaces de alterar la PHIR. Además, la inhibición selectiva de la SON médular renal de la rata hidropénica por infusión intersticial medular renal de L-NAME (2 $\mu\text{g}/\text{min}$) disminuye el FSMR y la PHIR (Mattson y col 1992). Lo mismo sucede si la infusión de L-NAME se realiza por vía endovenosa (10 $\mu\text{g}/\text{min}/\text{kg}$) en ratas Wistar hidropénicas (Atucha NM, 1994).

En 1999 Majid y col demostraron cambios inmediatos en la actividad de ON medular renal en respuesta a cambios la PPR en perros hidropénicos, que además fue positivamente correlacionada con los cambios en la excreción urinaria de los metabolitos estables (NO_2 y NO_3) de ON ($U_{\text{NO}_x\text{V}}$). Más recientemente, estos mismos autores (Majid y col 2001) documentaron en perros hidropénicos: a) la existencia de una relación lineal entre PPR vs PHIR sin que exista pérdida de la autorregulación del FSMR, b) la existencia de una relación lineal entre la PPR y la $U_{\text{NO}_x\text{V}}$, c) la pérdida de ambas relaciones cuando se administró intra-arterialmente un inhibidor de la SON. Para los autores, estos resultados sugieren que cambios en la PHIR en respuesta a la alteración de PPR están asociados con cambios en ON intra-renal sin que sea necesario invocar cambios específicos en la hemodinámica renal.

En contraste con la hidropenia, bajo condiciones de expansión de volumen con salino isotónico (ESI) la respuesta autorregulatoria del FSMR a cambios de PPR es notablemente diferente entre el perro (Majid DSA y col 1997) y la rata (Mattson 1993). Mientras que en la rata sometida a ESI, el flujo sanguíneo medular renal (FSMR) deja de autorregular o la hace menos eficientemente, en el perro el FSMR continua autorregulando de manera eficiente. Tal escenario condujo, por un lado a quienes realizan investigación con modelos murinos a sugerir que en la rata la falta de capacidad autorregulatoria del FSMR pudiera estar causalmente asociada a los

cambios de PHIR observados cuando se aumenta la PPR. Por otro lado, condujo a los investigadores que manejan el modelo canino a sugerir que bajo ESI la PPR modifica la PHIR sin necesidad de que se sucedan cambios en la hemodinámica medular renal. El hecho de que en el perro no se pueda demostrar pérdida de la capacidad autorregulatoria durante expansión de volumen por flujimetría láser-Doppler (FLD) no significa que su FSMR absoluto no se incremente. La tecnología de FLD sólo mide cambios de flujo relativos, de manera que si esta conclusión estuvo basada en los registros crudos, la sugerencia de que los cambios en PHIR en respuesta a cambios en PPR se dan sin necesidad de que existan cambios en la hemodinámica regional tiene poco sustento. En esta dirección está el trabajo Earley y Friedler (1965) quienes describieron en perros, que la ESI en contraste con el estado de hidropenia, inducía natriuresis y diuresis así como disminución de la Uosm (de 1200 mosm/kg a 400 mosm /kg) y disminución en la extracción arterio-venosa de para-amino-hipurato (PAH), substancia que es extraída por secreción activa en los túbulos proximales, los cuales son irrigados por el flujo sanguíneo cortical. Estos hechos hicieron proponer que en la ESI, la respuesta natriurética era debida, al menos en parte, a la disipación del gradiente cortico-medular intersticial de osmolaridad (Osgood RW y col 1977) consecutiva al aumento en el flujo sanguíneo renal "no cortical" (entiéndase "flujo sanguíneo medular renal").

Más recientemente, Atucha NM y col (1994) reportaron que la inhibición de la SON por la administración i.v. de L-NAME (10 µg/min/kg) significativamente atenuó el aumento de PHIR inducido por la expansión aguda de volumen con salino en la rata Sprague Dawley. En el mismo estudio, estos autores mostraron que en experimentos similares pero realizados en rata Wistar, la misma dosis de L-NAME atenuó la elevación de flujo sanguíneo papilar renal inducido por expansión salina. Nakamura y col (1998) documentaron que la inhibición sistémica de la SON con L-NAME (5µg min⁻¹kg⁻¹, i.v.) en ratas con expansión semiaguda de volumen extracelular y atenúa las respuestas de PHIR a cambios de PPR.

Resultados previos de nuestro laboratorio (Martín-Pérez S, 2006) en un modelo murino inédito que permitió evaluar simultáneamente en un mismo riñón la respuesta de FSMR, de FSCR, de PHIR y de la excreción urinaria de sodio y agua a la ESI aguda así como a la expansión con albúmina isotónica isoóncotica (EAI), indicaron que el cambio en la [Pr]p tuvo una influencia dos veces mayor que el cambio en Ht, ambos cambios adjudicándose el 48% de la variación explicada en la

delta de la PHIR. Sin embargo, ni el por ciento de cambio de FSMR flujo ni la capacidad autorregulatoria hemodinámica parecieron tener influencia en el determinismo del delta de PHIR. Esto sugirió, por un lado, que la reducción en la resistencia al flujo sanguíneo renal consecutiva a la ESI es fundamentalmente adjudicable a la disminución en la viscosidad sanguínea (dilución del Ht) con un componente menor debido a la resistencia vascular renal. Por otra parte la disminución en el Ht además de propiciar cambios en flujo sanguíneo contribuye a que la PPR se trasmita de manera más eficientemente hacia los vasa recta medulares. Sin embargo, este último evento por si sólo, no es suficiente para inducir aumento en el delta de PHIR a un nivel de PPR de 100 mmHg, es requisito que se reduzca la presión coloidosmótica de las proteínas para favorecer el que la PHIR se incremente de manera significativa.

Con base en estos antecedentes, se puso a prueba la hipótesis general de que la disminución de la resistencia vascular renal contribuye al aumento de PHIR inducido por la expansión aguda de volumen con salino isotónico (ESI). Específicamente pusimos a prueba la hipótesis de que la reducción del FSMR y la recuperación de la autorregulación de FSMR inducida por la inhibición de SON medular renal, atenuaría el aumento de PHIR en respuesta a la ESI y disminuirá la pendiente de la relación PPR vs PHIR. Para ello utilizamos un diseño experimental longitudinal donde las variables hemodinámicas (presión arterial media y FSMR), las variables dilucionales (Ht, [Pr]p) y la PHIR fueron evaluadas en condiciones de hidropenia y durante expansión de volumen con salino isotónico en presencia o ausencia de la inhibición selectiva de SON medular renal.

MATERIAL Y MÉTODOS

Manejo inicial de las unidades experimentales

Ratas Wistar macho de la cepa Med existente en el del Bioterio de la Facultad de Medicina de la UASLP con pesos entre los 230 y 260 g fueron colocadas en cajas de acrílico individuales desde 10 a 12 días previos al experimento bajo condiciones de temperatura y humedad controladas, ciclo luz-oscuridad (12 x 12) y acceso ad libitum a una dieta normocalórica (Rodent Diet, 2018S Teklad, 18% Protein, Harlan, Madisson, USA) y agua filtrada. A todas las ratas les fue registrado diariamente su peso corporal hasta el día del experimento cuando alcanzaron un peso en el rango de entre 302 y 348 g.

Procedimiento Quirúrgico

Todos los experimentos se realizaron bajo anestesia general. La inducción de la misma se realizó con pentobarbital sódico intraperitoneal (50 mg /Kg, Barbithal NRV, Holland de México, Mor, México) seguido de la administración i.m de atropina (0.05 mg /Kg, PISA, México). Después de diez minutos y una vez rasurado el animal, este fue colocado en la mesa de disección sobre una almohadilla con temperatura controlada (37.5°C), se administró éter por vía inhalatoria hasta que presentó anestesia profunda (~1.5 – 3 min), la cual fue verificada con la prueba de pinzado de la cola.

Primera etapa quirúrgica (Colocación de catéteres)

Anestesiado el animal, se procedió de manera aséptica a realizar una incisión ventral en la línea media cervical. Acto seguido, se separó el músculo esternohioideo y se expuso la traquea realizandose traqueostomía e insertando un tubo endotraqueal (PE 200, Intramedic, Clay Adams, BD, Sparks, MD) con el objeto de ventilar al animal. En seguida se introdujo: 1) un catéter (1 cm) de doble luz en vena yugular derecha (PE50 Intramedic, Clay Adams, BD, Sparks, MD) para la administración de soluciones de mantenimiento A o B y para la administración complementaria de anestésico en bolos (100 µl de pentobarbital sódico 50 mg/ml cada 50 min); 2) un catéter (1.5 cm) en la arteria carótida primitiva izquierda (PE 10, Intramedic, Clay Adams, BD, Sparks, MD) para obtener muestras sanguíneas. Posteriormente la herida fue suturada por planos con un surgete continuo,

verificando previamente la hemostasia. A través de una segunda incisión inguinal se insertó un catéter (2 cm) en la vena femoral derecha, (PE50 Intramedic, Clay Adams, BD, Sparks, MD, USA) para administrar la solución de expansión (Salino 0.9%), según protocolo experimental. Del mismo modo se procedió en el área inguinal izquierda, insertándose a contra-flujo un catéter (2cm) en la arteria femoral izquierda (PE 10, Intramedic, Clay Adams, BD, Sparks, MD) para el registro de la presión de perfusión renal (PPR). Ambas heridas se suturaron con un surgete continuo verificando la hemostasia.

Logrado lo anterior, se conectó el catéter arterial femoral izquierdo a un transductor de presión (Gould, P231D, USA) y se inició la ventilación mecánica del animal a través de un ventilador de volumen (Modelo E683, Harvard Apparatus, Holliston, MA) cuyo volumen circulante fue calculado con el nomograma de Kleiman & Radford (+ 0.6 ml de espacio muerto). Se proveyó oxígeno al 100% a través del puerto de entrada del ventilador (flujo = 0.3 L/ min), durante el resto del experimento. Acto seguido, la infusión de la solución de mantenimiento A (Salino 0.9% + Albúmina 1%) a una velocidad de 15 μ L/min (Bomba de Infusión Harvard Apparatus Mod.901, Mass, USA) se realizó a través del catéter yugular.

Segunda etapa quirúrgica (acceso a la cavidad abdominal)

Se incidió la pared abdominal en la línea media (desde la apéndice xifoides hasta ~2 cm por arriba del pubis), ligándose los vasos parietales con seda 4-0 (Ethicon, J & J, Sao Jose dos Campos, Brasil) y desplazando las viseras delicadamente al lado izquierdo de la cavidad abdominal, cubriéndolas con gasa húmeda (en salino 0.9%) y sujetándolas con ganchos retractores (de fabricación casera) para tener libre acceso a la cavidad peritoneal. Posteriormente se ligaron los vasos renales derechos a ~ 2mm de su emergencia aórtica y se colocó una sonda vesical. Acto seguido, las vísceras fueron recolocadas con cuidado intra-abdominalmente en el lado derecho y cubiertas de nuevo con gasa húmeda.

Utilizando disección roma se accedió al área retroxifoidea hasta visualizar la aorta descendente a la altura de las arterias mesentérica y la celiaca, disecándose ambas y refiriéndolas con nudos de Roeder en cada una de éstas, evitando afectar los vasos linfáticos del área. Sobre la aorta descendente se colocó el ocluser aórtico (OA) de fabricación casera (ver anexo A) el cual fue asegurado con nudos dobles y conectado a una bomba hidráulica manual (de fabricación casera) diseñada para

controlar la presión de perfusión renal (PPR) Todas las ramas emergentes visibles de la aorta abdominal así como la arteria iliaca derecha se ligaron con seda 4-0, con el objeto de derivar la mayor parte de la perfusión hacia el riñón izquierdo. La aorta abdominal renal, la arteria y la vena renal izquierda fue disecada con sumo cuidado para evitar desgarrar ramas colaterales y dejar espacio para ocluir la vena renal (OVR) de manera temporal con el objeto de probar la adecuada instalación del catéter de subcapsular para medir la presión hidrostática intersticial renal (PHIR). A continuación el riñón izquierdo fue separado de la grasa perirenal, evitando dañar la capsula renal, acto seguido se procedió a denervarlo quirúrgicamente y químicamente al pincelar el pedículo renal con una mezcla alcohol etílico-fenol al 10%.

Tercera etapa quirúrgica (colocación de sondas L- D y catéter subcapsular)

El riñón izquierdo aislado y denervado fue colocado dentro de una cápsula de sustentación de resina (holder) sobre su cara dorsal, haciéndolo descansar sobre una cama de 3 capas de algodón húmedo (salino 0.9%) y comprimido, evitando ocluir el uréter con la finalidad de aislarlo del movimiento respiratorio y fijar su posición. Una vez inmovilizado el riñón, se insertó en una sola maniobra de punción y sobre la curvatura mayor del riñón (~ en la intersección de las líneas sagital y frontal renal) el catéter intersticial renal medular de fabricación casera (ver anexo B) de manera que la punta del catéter quedara situada en la médula renal interna (ver cortes histológicos). Previo a la inserción del catéter intersticial medular renal, se colocó una gota de cianoacrilato en su estabilizador de polietileno con la finalidad de no tapar el catéter o evitar fugas al sellarlo después de la punción. Finalmente, el catéter intersticial medular renal se inmovilizó a través de un brazo articulado al poste que sujeta la cápsula. Logrado lo anterior se hizo un orificio en la cápsula renal a través del cual se insertó el catéter subcapsular de fabricación casera (ver anexo C) previamente purgado con solución Salina y conectado al transductor de presión (Gould, P231D, USA), guardando un ángulo de inserción de 60 grados respecto a la horizontal y una curvatura de 300 grados. El catéter fue entonces sujetado en su porción más distal a la piel pectoral de la rata y fijado a la cápsula de sustentación con un nudo de Roeder con seda 4-0. El orificio de la punción capsular y el espacio entre el orificio y el catéter fueron sellados con cianoacrilato (KOLA LOKA, Krazy, México). Todas estas maniobras fueron determinantes para la correcta transmisión

de la PHIR la cual fue evaluada al observar el incremento de PHIR a la oclusión de la vena renal (OVR).

Finalmente fueron colocadas dos sondas láser-Doppler (Probe 407-1, Perimed AB, Järfälla, Suecia). Por medio de un micromanipulador derecho (Modelo M3301R, WRI, Sarasota FL, EUA) una sonda láser-Doppler (Probe 411) en ángulo incidente de 52° fue introducida a una profundidad de 5.5 mm desde la superficie renal para el registro del flujo sanguíneo medular renal (FSMR). Las coordenadas usadas para la colocación de dicha sonda fueron 2 mm posterior al extremo trasero de la apertura hilar de la cápsula de sustentación y 4 mm lateral izquierdo a la apertura de la cápsula de sustentación. A través de un micromanipulador izquierdo (Modelo M3301R, WRI, Sarasota FL, EUA), una segunda sonda láser-Doppler (Probe 411, Perimed AB, Järfälla, Suecia) fue introducida en ángulo incidente de 70° a una profundidad de 1 mm desde la superficie renal para el registro del flujo sanguíneo cortical renal (FSCR). En cada sitio donde se introdujeron las sondas fueron cubiertas con grasa abdominal para mejorar la transmisión de la PHIR y evitar descompresión intersticial por la punción renal con las fibras.

Protocolo experimental (Fig.1)

Una vez instalado el catéter carotideo se extrajo una muestra sanguínea en capilares preheparinizados (Corning Mexicana, Mex.) que en lo sucesivo será identificada como muestra basal (BA). Terminado el procedimiento quirúrgico, se preparó la solución de mantenimiento B (Cóctel Hormonal), cuya infusión a través del catéter yugular a una velocidad de 15 μ l/min, sustituyó al mantenimiento A. Con el objeto de estabilizar los efectos de la infusión del mantenimiento B, se concedió un periodo de 30 minutos de equilibrio, posterior al cual se procedió a generar un periodo control (CONTROL 0 = CT0) de 10 min con la presión de perfusión renal (PPR) fijada a 100 mmHg. Esta PPR se mantuvo así por el resto del experimento excepto en los subprotocolos de PPR-Flujo-PHIR en los cuales fue modificada. Finalizado el periodo CT0 conforme a la asignación al azar realizada con ayuda del programa R (V.2.5.0) y con seguimiento en espiral en base a los experimentos completados, se procedió a infundir solución hiperosmótica isotónica intra-medular renal de vehículo (en el grupo ESI) o de la misma solución agregando L-NAME (L-NAME, 4 μ g/min por /325 g de peso) infundida a una velocidad de 9.6 μ L/min a través de una bomba de infusión continua (Harvard Apparatus 975, Mass, USA). Esta infusión fue

mantenida durante el resto del experimento. Luego de transcurrir 45 min de iniciada la infusión intra-medular, se generó un segundo periodo control (CONTROL A = CTA) que duró 10 min. Finalizado éste, se inició el subprotocolo de PPR-Flujo-PHIR al cerrar los nudos de Roeder colocados alrededor de las arterias mesentérica y la celiaca, de manera que la PPR aumentó a aproximadamente 160 mmHg. Al insuflar el OA con la bomba hidráulica, la PPR fue fijada consecutivamente a 160, 140, 120, 100, 80 y 60 mmHg a intervalos de 3 minutos. Terminado este primer subprotocolo de PPR-Flujo-PHIR, la PPR fue retornada a 160 mmHg por liberar el OA y se mantuvo ahí durante 2 min. A continuación la PPR fue fijada de nueva cuenta a 100 mmHg y se dió inició a un tercer periodo control (Control B = CTB) Durante los últimos 60 s del mismo, fue extraída una segunda muestra sanguínea arterial del puerto carotideo en capilares preheparinizados (muestra B). Acto seguido, se inició la infusión de solución salina isotónica al 0.9%, a una velocidad de 0.58 ml/min durante un lapso cronometrado de ~ 15 min para producir una expansión del volumen extracelular del 2.5% del peso corporal p.c. y a dicho lapso se le denominó periodo de Expansión (E). Durante los últimos 60 s del periodo de expansión, se extrajo una tercera muestra sanguínea del puerto carotideo en capilares preheparinizados (muestra E). Inmediatamente después se inició el periodo de Post-Expansión (PE) ejecutándose un segundo sub-protocolo de PPR-Flujo-PHIR llevando la PPR de los 160 a los 60 mmHg de manera similar al primer sub-protocolo y manteniendo la infusión de salino isotónico a 0.42 ml/min durante el mismo. En los últimos 60 segundos del registro a 60 mmHg de PPR se tomó una última muestra sanguínea en capilares preheparinizados que fue etiquetada como muestra PE.

Al termino del protocolo experimental, se cateterizó la arteria renal izquierda a una profundidad de 3 mm y lo mas distal posible a la bifurcación de las segmentarias, entonces el riñón fue perfundido ($t \leq 2$ min), primero con 10 ml de salino seguido de 20 ml de formaldehído amortiguado, con el objetivo de fijar los tejidos, se procedió a la resección del riñón y su almacenado en frascos refrigerados con formaldehído amortiguado para su posterior análisis histológico. Finalmente el animal fue eutanaziado con una sobredosis de Pentobarbital Sódico.

Medición de parámetros

El hematócrito (Ht) se midió por la técnica de microhematócrito (centrifuga Adams MP ReadAcrit, USA) en una muestra de 100 μ l de sangre heparinizada y centrifugada a 11,000 rpm x 10 min. La concentración de proteínas plasmáticas ([Pr]p) se midió por refractometría (Clinical Refractometer 5711-2021, Schuco, ERMA INC, Tokio, Japón). La presión de perfusión renal (PPR) y la presión hidrostática intersticial renal (PHIR) se registraron a través de sendos transductores de presión Gould P23-XL (Gould Inc, Oxnard CA, EUA) Calibrados respectivamente de 0 - 200 mmHg y de 0 -15 mmHg. Ambas señales fueron pre-amplificadas (Grass 7P1, Astro-Med Inc., West Warwick, RI, EUA), y filtradas electrónicamente (Grass 7DA) para obtener el valor medio respectivo de PPR y de PHIR, registradas en un polígrafo Grass modelo 79D y simultáneamente digitalizadas en una PC 6x86 a una frecuencia de muestreo de 2 Hz a través de una tarjeta de adquisición de datos de 8 bits de resolución. (DT2801 Data Translation, Marlboro, MA, EUA) controlada por un programa realizado en nuestro laboratorio desarrollado en el lenguaje HP VEE v.5.01 (Hewlett-Packard Co., Loveland, CO, EUA). La adquisición de las mediciones de flujo sanguíneo medular renal (FSMR) se realizó a través de un sistema Periflux (Perimed AB, Järfälla, Suecia) el cual consiste en una unidad principal (PF 5001) con dos unidades PF 5010 LDPM (Láser Clase 1, 780nm, potencia = 1mW, constante de tiempo = 0.3s, ancho de banda = 20 Hz – 20KHz, con un linealizador electrónico validado (Nilson GE, 1984), una sonda 411 con punta de 0.45 mm y un calibrador PF100 (estándar de motilidad y disco cero). La señal de perfusión se adquirió de manera continua a una frecuencia de 2 Hz y concomitantemente registrada en un polígrafo Grass modelo 79D y digitalizada simultáneamente con las demás variables.

Preparación de soluciones de mantenimiento

El mantenimiento A se elaboró disolviendo 100 mg de albúmina bovina fracción V (Sigma Chemical Co, A4503), en 10 ml de salino al 0.9% (concentración final 1%). El mantenimiento B consistió de la misma solución de albúmina (7 ml) a la cual se agregarán 2 ml de una solución alcohólica (Alcohol Etilico Absoluto, JT Backer, Xalostoc, México) de acetato de hidrocortisona (33 μ g/Kg/min, 2.1 mg / 2 ml, Sigma-Aldrich Química, H4126) más 1ml de salino (para lavado). A esta mezcla se le agregó: aldosterona (66 ng/Kg/min, 0.00423 mg / 10 ml, Fluka, 05521), norepinefrina (333 ng/Kg/min, 0.025 mg / 10 ml, bitartrato de norepinefrina Pridam,

Pisa, Guadalajara, Jal., Méx), hormona antidiurética (0.17 ng/Kg/ min, 0.0000109 mg /10 ml, Sigma-Aldrich Química, V9879), angiotensina II (5ng/Kg/min, 0.00032 mg / 10 ml, Sigma-Aldrich Química, A9525) (Fenoy JF & Roman JR, 1991) Los mantenimientos A o B se infundieron a razón de 15 μ l / min / 100 g de peso corporal

Preparación de la Solución de Expansión

La solución de expansión (ESI) se preparó masando 9 g de NaCl y disolviendolos en 1 L de agua destilada.

Preparación de Soluciones heparinizadas

Las soluciones de heparina (Inhepar, 5000 U/ml, Pisa, Guadalajara, Jal.) fueron preparadas en dos concentraciones. La primera llamada Heparina Arterial de 60 U / ml y una segunda (Heparina Venosa) de 125 U / ml, ambas en solución salina al 0.9%. La primera se utilizó como prime para purgar el catéter de PPR, en tanto que la segunda fue usada para purgar todos los demás catéteres y lavar subsecuentemente el catéter de PPR.

Preparación de las Soluciones Intra-medulares Renales

Solución salina hiperosmótica isotónica (Vehículo)

La solución salina hiperosmótica isotónica fue preparada con 1 17 g de NaCl mezclados con 2.4 g de UREA y aforados a 50ml con agua destilada.

Solución de L-NAME

La solución de L-NAME fue preparada al momento del experimento con 2.5 mg de N_w-Nitro-L-arginine methyl ester (L-NAME; Lote105K1686, Sigma, Suiza) pesados un día antes y disueltos en 5ml de solución salina hiperosmótica isotónica e infundida a razón de 4 μ g / min / 325g de peso (Mattson, y col, 1992).

Diseño Experimental

Se llevó a cabo un diseño experimental de tipo longitudinal agudo donde la rata Wistar fue la unidad experimental. La **estructura de tratamiento** fue un factorial grupo x tiempo, 2 x 3 ó 2 x 4, siendo los dos 2 grupos: sin L-NAME /hidropenia /ESI;

con L-NAME /hidropenia /ESI Cada tratamiento tuvo 15 replicaciones y la estructura del diseño fue completamente al azar con seguimiento en espiral con base en los experimentos completados.

Variables de respuesta para los parámetros de dilución sanguínea

Las variables de respuesta para estos parámetros fueron tanto los valores absolutos de hematócrito (Ht) y de la concentración de proteínas plasmáticas ([Pr]p) así como las deltas calculadas según el periodo. Los valores absolutos reportados en BA fueron los encontrados en la muestra basal arterial 20 min después de iniciada la cirugía, en tanto que aquellos reportados en CTB fueron los encontrados en la muestra arterial extraída en los últimos 60 s del periodo control B. Finalmente, los reportados en E y PE fueron los encontrados las muestras arteriales tomadas en los 60 s finales de la expansión y la post-expansión. Las deltas de Ht y [Pr]p en CTB fueron calculados como CTB-BA, en tanto que las deltas en E se calcularon como E - CTB y las delta en PE se calcularon PE – E.

Variables de Respuesta para FSMR y PHIR

Una respuesta apropiadamente ajustada por la línea base, no debe mostrar variación concomitante con la misma, es decir debe ser independiente de la línea base (Kaiser L, 1989). Bajo este criterio las variables de respuesta seleccionadas para FSMR y PHIR fueron el $\% \delta \text{FSMR}$ y el δPHIR y según el periodo estas variables de respuesta fueron calculándose como sigue: 1) para $\% \delta \text{FSMR}$: $\% \delta \text{FSMRCTA} = \text{CTA} - \text{CT0} / \text{CT0}$; $\% \delta \text{FSMRCTB} = \text{CTB} - \text{CT0} / \text{CT0}$; $\% \delta \text{FSMRE} = \text{E} - \text{CTB} / \text{CTB}$ y 2) para δPHIR : $\delta \text{PHIRCTA} = \text{CTA} - \text{CT0}$; $\delta \text{PHIRCTB} = \text{CTB} - \text{CT0}$; $\delta \text{PHIRE} = \text{E} - \text{CTB}$. Los valores en CTA y CTB fueron los promedios de los valores de los 180 s finales de cada uno de estos periodos mientras que los valores de E fueron el promedio de los valores de los 30 s finales de la expansión.

Variables de la respuesta para PPR, FSMR y PHIR durante la expansión de volumen extracelular.

La variable de respuesta para PPR durante la expansión de volumen fue ella misma. Las variables de respuesta para FSMR fue el $\% \delta \text{FSMR}$ calculado como FSMR obtenido en los últimos 15 s de cada periodo (0.25, 0.5, 0.75, 1, 1.25, 1.5, 1.75, 2, 2.25 y 2.5 % del p.c.) menos el FSMR obtenido en los 180 s finales del periodo CTB dividido entre CTB. Por otro lado la variable de respuesta para PHIR fue el δPHIR calculado como la PHIR obtenido en los últimos 15 s de cada periodo (0.25, 0.5, 0.75, 1, 1.25, 1.5, 1.75, 2, 2.25 y 2.5 % del p.c.) menos la PHIR obtenido en los 180 s del periodo CTB.

Variables de respuesta de PPR, FSMR y PHIR en los subprotocolos PPR-FSMR-PHIR

Las variables de respuesta de PPR, FSMR y PHIR en estos subprotocolos fueron la misma PPR, el $\% \delta \text{FSMR}$ y la δPHIR . Los $\% \delta \text{FSMR}$ se calcularon para cada nivel de PPR (140, 120, 100 y 80 mmHg) como FSMR en un nivel dado de PPR menos el FSMR en el CTA en el caso del subprotocolo en hipotensión o el FSMR en CTB en el caso del subprotocolo en la post-expansión. Las δPHIR se calcularon del valor de PHIR a una PPR dada menos la PHIR en el CTA en el caso del subprotocolo en hipotensión o la PHIR en CTB en el caso del subprotocolo en la post-expansión.

Variables de respuesta de PPR, FSMR y PHIR en los subprotocolos PPR-FSMR-PHIR para obtener los índices de autorregulación.

Las variables de respuesta de PPR, FSMR y PHIR en estos subprotocolos fueron la misma PPR, el $\% \delta \text{FSMR}$ y la δPHIR . Los $\% \delta \text{FSMR}$ se calcularon para cada nivel de PPR (140, 120, 100 y 80 mmHg) como FSMR en un nivel dado de PPR menos el FSMR a 100 mmHg dividido entre el FSMR a 100 mmHg.

Determinantes reológicos del FSMR durante expansión de volumen

El cambio en la resistencia al flujo sanguíneo a través de la circulación medular renal en la expansión de volumen fue calculada como PPR / FSMR en E – PPR / FSMR en CTB (delta de R = $R_E - R_{CTB}$). Sobre una base general, la

resistencia al flujo sanguíneo consiste del producto de la resistencia vascular (Z), dada por la geometría (longitud y radio de los vasos) y la viscosidad sanguínea (η), dada por el índice de deslizamiento y el hematócrito ($R = \eta Z$, Shlomoh S y col, 1986). A los índices de deslizamiento existentes a nivel del lado arterial de la microcirculación, la viscosidad sólo depende del hematócrito y dado ello se puede usar la ecuación de Vand (Merrill E, 1969) para estimar la viscosidad aparente de la sangre ($\eta_a = \eta_p (1 + 0.025H + 7.35 \times 10^{-4} H^2)$), donde η_p es la viscosidad del plasma (1.2 cP) que se supone que no cambia o cambia muy poco. Calculada la viscosidad aparente y sabiendo el valor de R es posible calcular Z y obtener las deltas correspondientes.

Análisis de los datos

Todos los datos fueron expresados como el promedio \pm EE. De manera preliminar, se realizó un análisis exploratorio exhaustivo con el objeto de sustentar la aleatorización y evaluar la distribución de las variables experimentales de interés. A continuación y sustentados en las hipótesis de trabajo se estratificaron los grupos en función de la respuesta del FSMR a la infusión intramedular renal de L-NAME o vehículo. El curso temporal de los parámetros de dilución sanguínea fue analizado a través de análisis de varianza multivariable (MANOVA) con medición repetida en el factor tiempo para detectar efectos de componentes principales y/o de interacciones grupo*tiempo. De ahí en adelante el análisis siguió el siguiente esquema: 1) se evaluaron posibles asociaciones entre variables independientes y dependientes haciendo uso del análisis multivariado, 2) en función de aquel se procedió a modelar las variables de respuesta haciendo uso análisis de regresión múltiple o ANCOVA para modelos de efectos fijos, 3) se probaron los criterios paramétricos por Brown-Forsythe (homó/heterocedasticidad) y Shapiro Wilk (ajuste a la distribución normal) en los residuales de los modelos y de ser necesario se hizo transformación de BoxCox. La selección del mejor modelo fue con base en la mayor r^2 , el menor AIC (Akaike HA, 1974) y el principio de parsimonia, 4) cuando fue pertinente se realizó análisis bivariado pareado y no pareado. El nivel de alfa impuesto fue de 0.05. El análisis estadístico fue realizado con el programa JMP V5.01 (SAS Institute).

RESULTADOS

Evaluación de la aleatorización

Se realizaron 31 experimentos siguiendo el protocolo mostrado en la Fig.1. Quince experimentos quedaron aleatoriamente asignados al grupo ESI mientras que los restantes 16 quedaron asignados al grupo ESI + L-NAME. No se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre grupos en el peso corporal al día del experimento (ESI = 326 ± 4 g ; ESI +L-NAME 327 ± 3 , t-student, ns), en el hematócrito (Ht) de la muestra basal (BA) (ESI = 49.6 ± 0.6 % ; ESI +L-NAME 50.1 ± 0.4 %, t-student, ns) ni en la concentración de proteínas plasmáticas [Pr]p en BA (ESI = 4.9 ± 0.1 g/dl ; ESI +L-NAME 5.2 ± 0.04 g/dl, t-student, ns) de manera que se consideró que la aleatorización fue adecuada.

Presión Hidrostática Intersticial Renal (PHIR)

La PHIR que constituyó la variable principal del trabajo fue evaluada preliminarmente en el periodo CONTROL 0 de todos los experimentos. Aunque la distribución de esta variable se ajustó a la normal en ambos grupos en este periodo, las gráficas de caja (box-plot) mostraron la existencia de 3 valores extremos a la alta (2 en ESI 8.6 y 10.4 mmHg; 1 en ESI+L-NAME: 7.7 mmHg) que además de mostrar comportamientos erráticos en el tiempo, volvieron a manifestarse en el Delta de PHIR (PHIR Control B – PHIR Control 0). De acuerdo a nuestra experiencia, estos valores extremos a la alta son producto de aspectos técnicos de instalación del catéter subcapsular por lo que nos vimos en la necesidad de eliminar estos tres experimentos (Experimentos 8, 11 y 17).

Constatación del posicionamiento de la sonda Láser-Doppler en la médula renal y del catéter intersticial medular renal

Con el objeto de constatar el posicionamiento de las sondas de flujo L-D en la médula renal así como la del catéter intersticial medular renal se realizaron cortes histológicos seriados de todos los riñones izquierdos. El catéter intersticial medular renal quedó posicionado en promedio en la unión de la banda interna de la médula externa y la médula interna, al centro del borde externo de sección transversal y a una profundidad de 5.5 mm. La sonda láser-Doppler medular quedó posicionada en promedio en la unión entre la banda interna de la médula externa y la médula

interna, a una profundidad de 5.5 mm y 2 mm posterior con respecto al catéter intersticial y a 52° con la horizontal incidiendo por el flanco derecho del riñón (Fig. 11) De conformidad con los criterios de eliminación planteados y como consecuencia de la valoración histológica se decidió eliminar 3 experimentos a saber: uno de vehículo (exp. 12 del grupo ESI) por razón de que la punta de sonda L-D medular quedo localizada en el espacio urinario y dos de L-NAME (exps. 21 y 31, grupo ESI + L-NAME) por razón de que la punta de la sonda L-D medular quedó localizada dentro un espacio vascular. Entonces, para esta etapa del análisis quedaron 25 experimentos de los 31 iniciales, 12 de ellos siendo del grupo ESI y 13 del grupo ESI+L-NAME.

Respuestas del FSMR a la infusión intramedular de vehículo o de L-NAME

El análisis preliminar de los resultados de FSMR indicó que en cada grupo las respuesta del FSMR ($\% \delta \text{FSMRCTA vs CT0}$) a la infusión intramedular ya sea de vehículo o de L-NAME era variable. En los tratados con vehículo (grupo ESI) hubo los que mostraron no cambio o el incremento esperado de FSMR ($n = 9$) y los que mostraron una disminución inesperada de FSMR ($n = 3$, exps. 3, 6 y 14), mientras que en los tratados con L-NAME (grupo ESI + L-NAME) hubo los que mostraron no cambio o la disminución esperada en el FSMR ($n = 9$) y los que mostraron un incremento inesperado en el FSMR ($n = 4$, exps. 16,18,19, 22). Dado que la hipótesis de trabajo planteaba evaluar los efectos de la reducción del FSMR inducida por la inhibición de la sintasa de ON (vs los efectos del aumento del FSMR) se decidió proceder con el análisis de sólo aquellos experimentos que mostraron el comportamiento aproximadamente esperado, es decir 9 del grupo ESI y 9 del grupo ESI+ L-NAME.

Parámetros de dilución sanguínea

Hematócrito (Ht, Tabla 1 y Fig.2)

El Ht en el periodo BA mostró diferencias significativas entre grupos (ESI = $50.7 \pm 0.5 \%$ vs ESI + LNAME = $48.7 \pm 0.5 \%$, t-student, $p = 0.05$). El análisis del curso temporal del valor absoluto de Ht por mediciones repetidas (por MANOVA) mostró efecto de tiempo ($p < 0.0001$) pero no efecto de grupo ni interacción grupo*tiempo. Así, en el periodo CTB el Ht mostró un aumento estadísticamente significativo en ambos grupos con respecto a BA (ESI = $55.5 \pm 1.0 \%$, t-pareada, $p = 0.0021$; ESI + L-NAME = $55.8 \pm 1.2 \%$, t-pareada, $p = 0.0001$; ESI vs ESI +L-

NAME, t-student, ns) que luego se diluyó de manera significativa en ambos grupos con respecto a CTB (ESI = 47.5 ± 1.3 %, t-pareada, $p = 0.0001$; ESI + L-NAME = 45.5 ± 1.3 %, t-pareada, $p = 0.0001$; ESI vs ESI+L-NAME, t-student, ns) para finalmente sostenerse al mismo nivel en cada grupo durante la PE (ESI = 47.8 ± 1.1 %, ESI + L-NAME = 45.7 ± 1.5 %, ns; ESI vs ESI + L-NAME, t-student, ns) El escenario fue un poco distinto cuando se analizaron las deltas de Ht, encontrándose que: a) aunque hubo una tendencia de la delta (CTB – BA) de Ht a ser mayor en el grupo ESI + L-NAME (7.1 ± 1.0 %) que en el grupo ESI (4.8 ± 1.2 %) éste parámetro no resulto ser significativamente diferente entre grupos (t-student); b) la delta (E-CTB) de Ht fue significativamente mayor (t-student, $p = 0.03$) en el grupo ESI+L-NAME (10.3 ± 0.6 %) que en el grupo ESI (7.9 ± 0.7 %), indicando que la magnitud de la expansión salina fue mayor en el primer grupo que en el segundo y c) que la delta (PE-E) de Ht fue semejante en ambos grupos indicando que durante la PE ambos grupos permanecieron igualmente hemodiluidos.

Concentración de proteína plasmática ([Pr]p, Tabla 1 y Fig.3)

El análisis del curso temporal del valor absoluto de [Pr]p por mediciones repetidas (MANOVA) mostró efecto de tiempo ($p < 0.0001$) y de grupo ($p = 0.023$) pero no interacción grupo*tiempo. El valor absoluto de [Pr]p mostró diferencias significativas temporales entre los periodos BA y CTB en el grupo ESI (de 5.1 ± 0.05 g/dl en BA a 4.8 ± 0.06 g/dl en CTB, t-pareada, $p = 0.0016$) pero no en el grupo ESI +L-NAME (de 4.9 ± 0.16 en BA a $4.7 \pm$ en CTB, t-pareada, ns). Durante la expansión (E), la [Pr]p disminuyó con respecto a CTB en ambos grupos (ESI = 3.2 ± 0.08 g/dl en E, t-pareada, $p = 0.0001$; ESI + L-NAME = 2.9 ± 0.09 g/dl en E, t-pareada, $p = 0.0001$) el valor en el grupo ESI + L-NAME siendo discretamente menor que en el grupo ESI (t-student, $p = 0.04$). Finalmente, en la PE, la [Pr]p se sostuvo al mismo nivel que al final de la E aunque las diferencias entre grupos persistieron. (ESI = 3.2 ± 0.09 g/dl vs ESI + L-NAME = 2.8 , t-student, $p = 0.02$). El análisis de las deltas (CTB – BA, E – CTB, PE –E) de [Pr]p no detectó diferencias entre grupos.

Flujo Sanguíneo Medular Renal

Respuesta de Flujo Sanguíneo Medular Renal en el periodo Control A

Esta respuesta fue el por ciento de cambio del FSMR en el periodo CTA con respecto al periodo CT0 ($\% \delta \text{FSMRCTA} = \text{CTA-CT0/CT0} \times 100$). En el lapso entre CT0 y CTA (ver Fig.1) la infusión intra-medular de vehículo o L-NAME tuvo lugar y se dio tiempo (~ 45 min) para que ellos ejercieran sus efectos. Inicialmente se evaluó por análisis multivariado las asociaciones de $\% \delta \text{FSMRCTA}$ con posibles variables independientes implicadas en este periodo o en uno previo (CT0). Se encontraron correlaciones significativas de $\% \delta \text{FSMRCTA}$ con [Pr]p BA ($r = 0.4721$, $p = 0.0479$) y con FSRMCT0 ($r = -0.5630$, $p = 0.0150$). A continuación se modeló $\% \delta \text{FSMRCTA}$ para las variables Grupo, FSMRCT0 y [Pr]pBA y sus interacciones. Sólo se observó efecto de Grupo (r^2 adj. 0.7040, ANOVA $p = 0.0001$, potencia = 1), los residuales del modelo ajustándose a la distribución normal y mostrando homocedasticidad. Este modelaje indicó entonces que había diferencias estadísticamente significativas entre grupos en el parámetro $\% \delta \text{FSMRCTA}$, lo cual fue corroborado en el análisis bivariado (ESI = 6.7 ± 1.7 % vs ESI + L-NAME = -14.8 ± 3.1 %, t-student, $p = 0.00001$). Es decir la infusión intra-medular de L-NAME disminuyó el flujo sanguíneo medular en este periodo ($\% \delta \text{FSMRCTA}$) con respecto al periodo CT0, cosa que no hizo la infusión intramedular de vehículo (Tabla 1 y Fig.4).

Respuesta de Flujo Sanguíneo Medular Renal en el periodo Control B

Esta respuesta fue el por ciento de cambio del FSMR en el periodo CTB con respecto al periodo CT0 = $\% \delta \text{FSMRCTB} = \text{CTB-CT0/CT0} \times 100$. Previo a este periodo (ver Fig.1) se realizó el primer subprotocolo de PPR-Flujo-PHIR en ambos grupos, mientras que la infusión intramedular de vehículo o L-NAME continuaba. Inicialmente se evaluó por análisis multivariado las asociaciones de $\% \delta \text{FSMRCTB}$ con posibles variables independientes implicadas en este periodo o en uno previo (CTA). Se encontraron correlaciones significativas de $\% \delta \text{FSMRCTB}$ con $\% \delta \text{FSMRCTA}$ ($r = 0.4551$, $p = 0.0577$) y con la resistencia al flujo sanguíneo (RB: $r = -0.6355$ $p = 0.0046$). A continuación se modeló $\% \delta \text{FSMRCTB}$ para las variables $\% \delta \text{FSMRCTA}$ y RB y sus interacciones. En este caso, el factor Grupo no fue introducido en el modelo porque se consideró implícito en la variable $\% \delta \text{FSMRCTA}$ (ver análisis de $\% \delta \text{FSMRCTA}$) y porque al hacerlo así permitiría aumentar la precisión del modelaje. El modelo final (r^2 adj 0.6827, ANOVA $p = 0.0001$) indicó efecto directo de $\% \delta \text{FSMRCTA}$ ($\beta = 0.6996$, $p = 0.0019$, potencia = 0.9389, $\eta^2 =$

29%) y efecto inverso de RE ($\beta = -29.92$, $p = 0.0021$, potencia = 0.9983, $\eta^2 = 71\%$), los residuales ajustándose a una distribución normal y mostrando homocedasticidad. Dicho en otras palabras, el modelaje indicó que conforme más bajo fue el FSMR en CTA más bajó fue en CTB y en ello participaron incrementos en resistencia al flujo sanguíneo. En concordancia con el modelaje, el análisis bivariado de esta variable reportó diferencias entre grupos en este periodo (ESI = $-8.2 \pm 3.6\%$ vs ESI + L - NAME = $-24.8 \pm 3.6\%$, t-student, $p=0.04$, Tabla 1 y Fig. 4).

Respuesta de Flujo Sanguíneo Medular Renal en la expansión de volumen (E)

Esta respuesta fue el por ciento de cambio del FSMR hacia el final del periodo E con respecto al periodo CTB = $\% \delta \text{FSMRE} = \text{CTE} - \text{CTB} / \text{CTB} \times 100$. Durante la expansión de volumen extracelular la infusión intramedular de vehículo o L-NAME continuó en los correspondientes grupos. Se procedió a evaluar por análisis multivariado las asociaciones de $\% \delta \text{FSMRE}$ con posibles variables independientes implicadas en este periodo (delta de resistencia al flujo sanguíneo = delta R = RE - RB), delta de presión de perfusión renal (delta de PPR = PPRE - PPRB) o en uno previo ($\% \delta \text{FSMRCTB}$). Se encontraron correlaciones significativas de $\% \delta \text{FSMRE}$ con $\% \delta \text{FSMRCTB}$ ($r = -0.7103$, $p = 0.0010$), con el delta R ($r = -0.9468$, $p < 0.0001$) y correlación parcial con delta PPR ($r = 0.7273$). Se procedió entonces a modelar esta variable introduciendo, además de las variables sugeridas por el análisis multivariado, el factor Grupo y las posibles interacciones. El modelo final (r^2 adj. = 0.9622, ANOVA: $p < 0.0001$) indicó efecto directo del delta PPR ($\beta = 1.9770$, $p = 0.0186$, potencia = 0.6972, $\eta^2 = 2.3\%$) un efecto inverso del delta R ($\beta = -94.9$, $p < 0.0001$, potencia = 1, $\eta^2 = 98\%$) y un efecto inverso de la interacción delta R * delta PPR ($\beta = -5.359$, $p < 0.0170$, potencia = 0.7118, $\eta^2 = 1.7\%$), los residuales ajustándose a una distribución normal y mostrando homocedasticidad. La magnitud del delta PPR para el grupo ESI fue de -0.57 ± 0.49 mmHg (rango de 5.48 mmHg) y para el grupo ESI+L-NAME fue de -0.11 ± 0.55 (rango de 4.88 mmHg) no existiendo diferencias significativas entre ellos. De conformidad con el modelaje, el análisis bivariado no reportó diferencias significativas entre grupos en $\% \delta \text{FSMRE}$ (ESI = $33.7 \pm 4.7\%$ vs ESI + L-NAME = $49.8 \pm 13\%$, t-student, ns) (Tabla 1 y Fig.4). Este análisis indica entonces que la magnitud del incremento de FSMR durante la expansión fue semejante en ambos grupos.

Respuesta de la Resistencia al Flujo de Sangre y sus componentes durante la expansión de volumen.

Dada la importancia que mostró el delta de R en el determinismo del $\% \delta \text{FSMRE}$, se decidió evaluar la respuesta de sus determinantes (delta R = delta η x delta Z). La Fig. 5, muestra que en ambos grupos la resistencia al flujo sanguíneo (R) cayó durante la E de manera similar. El modelaje de la delta R (r^2 adj = 0.9569, ANOVA: $p < 0.0001$) indicó efecto directo de la delta Z ($\beta = 5.6$, $p < 0.0001$, potencia = 1, $\eta^2 = 95.6\%$) y directo de la delta η ($\beta = 0.2765$, $p = 0.001$, potencia = 0.9620, $\eta^2 = 4.4\%$) pero no interacción, los residuales ajustándose a la normal y mostrando homocedasticidad. Por otro lado el análisis de mediciones de repetidas (por MANOVA) de delta R y sus determinantes arrojó efecto de tiempo, pero no de grupo, para las variables delta R, delta Z y efecto de la interacción grupo*tiempo en la variable delta η ($p = 0.02$), que se confirmó en el análisis bivariado (Fig.5 panel central). Hay que destacar, sin embargo, que la delta Z en el grupo ESI fue significativamente diferente de cero, mientras que en el grupo ESI+L-NAME no lo fue. Este análisis indicó entonces, que aún cuando la resistencia vascular renal (Z) en el grupo ESI + L-NAME no se redujo de manera significativa durante la E, ello fue compensado por una mayor caída en la viscosidad (η) en este grupo que en grupo ESI.

Presión Hidrostática Intersticial Renal (PHIR)

PHIR en el periodo Control 0. No hubo diferencias estadísticamente significativas entre grupos en PHIR en este periodo (ESI = 3.3 ± 0.3 mmHg vs ESI + L-NAME = 2.8 ± 0.4 mmHg, t-student, ns)

Evolución temporal de la PHIR desde el periodo CT0 hasta el final de la E

El análisis de mediciones repetidas (por MANOVA) de la PHIR indicó efecto de tiempo ($p < 0.03$) y de grupo ($p < 0.02$) en periodo CTA y sólo efecto de tiempo en los subsecuentes (CTB: $p < 0.0001$; E: $p < 0.0001$).

Respuesta de PHIR en el periodo CTA

Esta respuesta fue el cambio del PHIR en el periodo CTA con respecto al periodo CT0 = $\delta \text{PHIR}_{\text{CTA}} = \text{CTA} - \text{CT0}$. En el lapso entre CT0 y CTA (ver Fig. 1) la infusión intramedular de vehículo o L-NAME tuvo lugar y se dio tiempo (~ 45 min)

para que ellos ejercieran sus efectos. Inicialmente se evaluó por análisis multivariado las asociaciones de δ PHIRCTA con posibles variables independientes implicadas en este periodo o en uno previo (CT0). Se encontró una correlación significativa de δ PHIRCTA con FSRMCTA ($r = 0.6435$, $p = 0.0040$) y correlación parcial con [Pr]pBA ($r = -0.4947$). En este caso, el factor Grupo no fue introducido en el modelo porque se consideró implícito en la variable $\% \delta$ FSMRCTA (ver análisis de $\% \delta$ FSMRCTA) y porque al hacerlo así permitiría aumentar la precisión del modelaje. A continuación se modeló δ PHIRCTA para las variables $\% \delta$ FSMRCTA y [Pr]pBA y sus interacciones. El modelo final (r^2 adj. = 0.5256, ANOVA. $p < 0.0015$) indicó efecto de $\% \delta$ FSMRCTA ($\beta = 0.0333$, $p = 0.0004$, potencia = 0.9888, $\eta^2 = 71.2\%$) y de [Pr]pBA ($\beta = -0.6312$, $p = 0.0271$, potencia = 0.06295, $\eta^2 = 28.7\%$), los residuales del modelo ajustándose a la distribución normal y mostrando homocedasticidad. Este modelaje indicó entonces que había diferencias estadísticamente significativas entre grupos en el parámetro δ PHIRCTA, lo cual fue corroborado en el análisis bivariado (ESI = 0.03 ± 0.07 % vs ESI + L-NAME = -0.51 ± 0.19 , mmHg, t-student, $p = 0.03$). Es decir la infusión intramedular de L-NAME disminuyó δ PHIRCTA en gran medida por la disminución flujo sanguíneo medular en este periodo con respecto al periodo CT0 ($\% \delta$ FSMRCTA), cosa que no hizo la infusión intramedular de vehículo (Tabla 1 y Fig.6).

Respuesta de PHIR en el periodo CTB

Esta respuesta fue el cambio del PHIR en el periodo CTB con respecto al periodo CT0 = δ PHIRCTB = CTB-CT0. Previo a este periodo (ver Fig.1) se realizó el primer subprotocolo de PPR-Flujo-PHIR en ambos grupos, mientras que la infusión intramedular de vehículo o L-NAME continuaba. Inicialmente se evaluó por análisis multivariado las asociaciones de δ PHIRCTB con posibles variables independientes implicadas en este periodo o en uno previo (CTA). Se encontraron correlaciones significativas de δ PHIRCTB con $\% \delta$ FSMRCTB ($r = 0.5809$, $p = 0.0108$) y correlación parcial con $\% \delta$ FSMRCTA ($r = -0.4038$). Subsecuentemente se modeló esta variable, introduciendo además de las variables sugeridas por el análisis multivariado, el factor Grupo y las posibles interacciones. El modelo final (r^2 adj. 0.6792, ANOVA $p = 0.0003$) no indicó efecto de grupo ($p = 0.0531$, $\eta^2 = 2.3\%$), pero sí efecto directo de $\% \delta$ FSMRCTB ($\beta = 0.0248$, $p = 0.0285$, potencia = 0.6223, $\eta^2 = 71\%$) y de la interacción grupo * $\% \delta$ FSMRCTB ($\beta = 0.0316$, $p = 0.0066$, potencia = 0.8426, $\eta^2 =$

27%), los residuales ajustándose a una distribución normal y mostrando homocedasticidad. Dicho en otras palabras, el modelaje indicó que en el grupo ESI el δ PHIRCTB no siguió el mismo comportamiento que siguió el $\% \delta$ FSMRCTB (ver arriba), sino que cayó más, de manera que las deltas de PHIR fueron semejantes y de hecho la PHIR en este periodo prácticamente tuvo el mismo valor en ambos grupos (ESI = 2.0 ± 0.2 mmHg vs ESI + L - NAME = 1.60 ± 0.5 mmHg ,ns, Tabla 1 y Figura 6)

Respuesta de PHIR en la expansión de volumen (E)

Esta respuesta fue el cambio de la PHIR hacia el final del periodo E con respecto al periodo CTB = δ PHIRE = E-CTB. Durante la expansión de volumen extracelular la infusión intramedular de vehículo o L-NAME continuó en los correspondientes grupos. Se procedió a evaluar por análisis multivariado las asociaciones de δ PHIR con posibles variables independientes implicadas en este periodo (delta de HtE, delta de [Pr]pE, $\% \delta$ FSMRE, delta de PPRE = PPRE-PPRB, delta de RE = RE-RCTB y el de sus determinantes η y Z o en uno previo ($\% \delta$ FSMRCTB). Para nuestra sorpresa, no se encontró ninguna correlación con sentido biológico que tuviera significancia estadística. De cualquier manera se procedió a modelar esta variable introduciendo como variables independientes potenciales aquellas que a nuestro juicio tendrían sentido biológico (factor grupo, delta de HtE, delta de [Pr]pE, $\% \delta$ FSMRE, delta de PPRE delta de RE) y sus interacciones. De nueva cuenta, el modelaje no arrojó ningún efecto de los componentes principales ni de sus interacciones.

De conformidad con el modelaje, el análisis bivariado no reportó diferencias significativas entre grupos en δ PHIRE (ESI = 3.6 ± 0.4 mmHg vs ESI + L-NAME = $4.2 \pm 0.7\%$ mmHg, t-student, ns) (Tabla 1, Fig.6 y Fig.8).

Relaciones de Presión de Perfusión Renal (PPR) vs δ PHIR durante hidropenia y la post-expansión de volumen

Las relaciones δ PHIR vs PPR obtenidas en hidropenia y durante la PE en los dos grupos se encuentran graficadas en la Fig. 7. En este caso el δ PHIR se obtiene de la diferencia de PHIR obtenida a un nivel de una PAM dada menos la PHIR en CTB. El análisis de mediciones repetidas (por MANOVA) indicó que en hidropenia hubo efecto de presión ($p < 0.0001$) e interacción grupo * presión ($p = 0.02$) de

manera que el δ PHIR mostró una relación directa con el aumento en la PPR en ambos grupos que fue mayor en el grupo ESI ya que la diferencia de δ PHIR entre las PPR de 140 y 80 mmHg de PPR en este grupo fue de 1.3 ± 0.2 mmHg mientras que en el grupo ESI+L-NAME fue de 0.6 ± 0.2 mmHg (t-student, $p < 0.02$). En contraste, durante la PE el análisis de mediciones repetidas (por MANOVA) indicó sólo efecto de presión ($p < 0.0001$), de manera que la diferencia de δ PHIR entre 140 y 80 mmHg de PPR fue semejante en ambos grupos (ESI: 5.9 ± 1.2 vs ESI+L-NAME: 6.4 ± 1.3 , mmHg, t-student, ns) y significativamente mayor que la mostrada en hidropenia, como se observa en la Fig.7

Relaciones de Presión de Perfusión Renal (PPR) vs $\% \delta$ FSMR durante hidropenia y la post-expansión de volumen

Las relaciones $\% \delta$ FSMR vs PPR obtenidas en hidropenia y post-expansión en cada uno de los grupos se encuentran graficados en la Fig.8. En el caso de hidropenia (curvas inferiores de los paneles A y B) el $\% \delta$ FSMR se calculó de la diferencia de FSMR obtenida a un nivel de PAM dado menos el FSMR obtenido en CTA dividido entre este último y multiplicado por 100. Durante hidropenia el análisis de mediciones repetidas (por MANOVA) indicó sólo efecto de presión ($p < 0.0001$), de manera que la diferencia de $\% \delta$ FSMR entre 140 y 80 mmHg de PPR fue semejante en ambos grupos (ESI: 15.2 ± 4.6 vs ESI+L-NAME: 15 ± 3.7 , %, t-student, ns), En contraste, en el caso de post-expansión (curvas superiores de los paneles A y B en la Fig.8) el $\% \delta$ FSMR se calculó de la diferencia de FSMR obtenida a un nivel de PAM dado menos el FSMR obtenido en CTB dividido entre este último y multiplicado por 100. Durante postexpansión el análisis de mediciones repetidas (por MANOVA) de nuevo indicó sólo efecto de presión ($p < 0.0001$), de manera que la diferencia de $\% \delta$ FSMR entre 140 y 80 mmHg de PPR fue semejante en ambos grupos (ESI: 42.0 ± 6.0 vs ESI+L-NAME: 26.0 ± 12 , %, t-student, ns) Cabe destacar que en ambos grupos las curvas de PPR vs $\% \delta$ FSMR obtenidas durante post-expansión mostraron un desplazamiento, estadísticamente significativo (t pareada, $p = 0.003$ o menor), hacia arriba sobre el eje de la Ys con respecto a las curvas obtenidas en hidropenia, indicando que para una PPR dada la expansión de volumen y la subsecuente post-expansión indujo en ambos grupos un aumento en el valor absoluto de FSMR con respecto al FSMR absoluto en hidropenia.

Respuestas Autorregulatorias del % δ FSMR durante hidropenia y la post-expansión de volumen

En la Fig. 9 las respuestas autorregulatorias del % δ FSMR de ambos grupos durante hidropenia se encuentran graficados en el Panel A, mientras que las obtenidas durante la post-expansión se encuentran graficados en el Panel B. En ambos estadios los % δ FSMR se calcularon de la diferencia de FSMR obtenida a un nivel de PAM dado, menos el FSMR obtenido a 100 mmHg, dividido entre este último y multiplicado por 100. A partir de estos valores se calcularon los índices de autorregulación (IA, ver material y métodos) 140/100. Durante hidropenia el análisis de mediciones repetidas (por MANOVA) indicó que hubo efecto sólo de presión ($p < 0.0001$) de manera que la diferencia de % δ FSMR entre 140 y 80 mmHg de PPR fue semejante en ambos grupos (ESI: 16.5 ± 5.6 vs 18.5 ± 4.8 , %, ns) como también lo fueron los índices de autorregulación (ESI: $0.21 \pm 0.09\%$ vs ESI + L-NAME: $0.21 \pm 0.12\%$, t-student, ns). En contraste, durante la post-expansión el análisis de mediciones repetidas (por MANOVA) indicó que hubo efecto de presión ($p < 0.0001$) e interacción grupo * presión ($p = 0.01$) de manera que la diferencia de % δ FSMR entre 140 y 80 mmHg de PPR fue significativamente mayor ($p < 0.05$) en el grupo ESI ($32.5 \pm 5\%$) que en el grupo ESI+L-NAME ($16.0 \pm 6.5\%$), con índices de autorregulación 140/100 también estadísticamente diferentes (ESI: 0.53 ± 0.11 vs ESI+L-NAME: 0.19 ± 0.13 , t-student, $p < 0.05$). Entonces, de este análisis se desprende que durante la post-expansión el grupo ESI dejó de autorregular, mientras que el grupo ESI+L-NAME continuó autorregulando.

Respuesta Simultánea de la PPR, el % δ FSMR y % δ PHIR durante la Expansión de Volumen

La Fig.10 muestra el curso temporal simultáneo de la PPR, de el % δ FSMR (tomando el FSMR en CTB como base) y el de la δ PHIR (tomando la PHIR en CTB como base) durante la expansión de volumen extracelular. El análisis de mediciones repetidas (por MANOVA) indicó efecto sólo de tiempo para las variables % δ FSMR ($p < 0.0001$) y δ PHIR ($p < 0.001$) a partir del 0.25 % del p.c. de expansión y hasta finalizar la misma (2.5% del p.c.), en tanto que la PPR se mantuvo en 100 mmHg a lo largo de la misma.

Determinantes del Flujo Sanguíneo Medular Renal durante la expansión de Volumen (n = 25)

Con el objetivo de evaluar la influencia del % δ FSMRCTA en el determinismo del % δ FSMRE se modeló la respuesta del % δ FSRME con 25 experimentos que incluyeron aquellos del grupo ESI que mostraron una disminución en % δ FSMRCTA con la infusión intra-medular de vehículo (n = 3, expts. 3, 6 y 14) y aquellos del grupo ESI+L-NAME que mostraron un aumento en % δ FSMRCTA con la infusión intramedular de L-NAME (n = 4, expts. 16,18,19, 22). Se procedió a evaluar por análisis multivariado las asociaciones de % δ FSMRE con posibles variables independientes implicadas en este periodo (delta de PrE-PrCTB, delta RE-RB, delta de PPRE - PPRCTB) o en los previos (% δ FSMRCTA, % δ FSMRCTB) Se encontraron correlaciones significativas de % δ FSMRE con % δ FSMRCTB (r = -0.6862, p = 0.0002), con la delta R (r = - 0.9337 , p<0.0001) y con la delta de PrE-PrCTB (r = -0.3886, p<0.0549) y correlación parcial con delta PPR (r = 0. 6983). Se procedió entonces a modelar esta variable introduciendo, además de las variables sugeridas por el análisis multivariado, la variable % δ FSMRCTA y las posibles interacciones. El modelo final (r^2 adj. = 0.9756, ANOVA: p < 0.0001) indicó efecto directo del delta PPR (β = 2.81, p < 0.0001, potencia = 0.9978, η^2 = 10%) un efecto inverso del delta R (β = - 99.5 , p < 0.0001, potencia = 1, η^2 = 87 %) y un efecto inverso de la interacción delta R * delta PPR (β = - 6.75, p < 0.0001, potencia = 0.9901, η^2 = 2.9 %), los residuales ajustándose a una distribución normal y mostrando homocedasticidad. De este análisis se concluye que el efecto diferencial que tuvo el vehículo o el L-NAME sobre el % δ FSMRCTA no tuvo influencia en la respuesta del % δ FSMRE en la expansión de volumen.

Respuesta de PHIR en la expansión de volumen (n = 25)

Con el objetivo de identificar alguna variable que explicara el δ PHIRE se decidió modelar esta variable haciendo uso de los 25 experimentos que incluyeron aquellos del grupo ESI que mostraron una disminución en % δ FSMRCTA con la infusión intramedular de vehículo (n = 3, expts. 3, 6 y 14) y aquellos del grupo ESI+L-NAME que mostraron un aumento en % δ FSMRCTA con la infusión intramedular de L-NAME (n = 4, expts. 16,18,19, 22). Se procedió a evaluar por análisis multivariado las asociaciones de δ PHIR con posibles variables independientes implicadas en este periodo (delta de HtE, delta de [Pr]pE, % δ FSMRE, delta de PPRE = PPRE-PPRB,

delta de RE = RE-RCTB y el de sus determinantes η y Z o en uno previo ($\% \delta \text{FSMRCTB}$). De nueva cuenta no se encontró ninguna correlación con sentido biológico que tuviera significancia estadística.

DISCUSION

Los hallazgos fundamentales del presente trabajo realizado en ratas Wistar macho son tres: a) que bajo condiciones de hidropenia los factores que determinan la PHIR parecen ser de manera directa y preponderante el flujo sanguíneo medular renal (FSMR) y de manera inversa y secundaria la concentración de proteínas plasmáticas; b) que la infusión intramedular renal de L-NAME aunque impide que se reduzca la resistencia vascular renal e impide que se pierda la autorregulación hemodinámica del FSMR, no atenúa en absoluto la respuesta de PHIR a ESI, como tampoco la relación PPR vs PHIR en la post-expansión; c) que ni la hemodilución, ni la pérdida de autorregulación hemodinámica ni el aumento de FSMR explican el aumento de PHIR inducido por ESI.

PHIR en hidropenia. La PHIR está determinada por la interacción del volumen intersticial renal y las características visco-elásticas del intersticio renal y su cápsula. Existe consenso en que el origen de la PHIR es medular y que como toda buena presión, se trasmite en todas direcciones sin menoscabo de su magnitud (principio de Pascal). Asumiendo, que el volumen intersticial medular renal se mantiene constante, el ingreso de agua a la médula renal por reabsorción tubular de agua desde la PRTP en la ME, desde el PDDAH en la MI y desde el CC debe ser removido por los vasa recta ascendentes (VRA). El flujo transcápilar de agua en el VRD es en el sentido de eflujo (capilar→intersticio) mientras que en el VRA es en el sentido de influjo (intersticio → capilar). El flujo transcápilar de agua en el VRD se da en el sentido de eflujo a pesar de que la presión oncótica intracapilar (coeficiente de reflexión ~ 0.89 para Pr- en VRD) excede a la presión hidrostática intracapilar, ya que existe un gradiente osmótico (mayor [Na] en intersticio que en capilar), de manera que reducciones o aumentos de la presión oncótica intracapilar a consecuencia del respectivo cambio en la concentración de proteínas propiciará que aumente o que disminuya respectivamente la PHIR (Pallone TL y col 2003). Por otro lado, el flujo sanguíneo a la médula renal en la rata es aportado aparentemente por dos vías: una principal constituida por las arteriolas eferentes de las nefronas yuxtamedulares las cuales muestran autorregulación per se y otra secundaria, constituida por los cortocircuitos periglomerulares (CCPG) (Pallone TL y col 2003). Estructuralmente, las arteriolas eferentes de las nefronas yuxtamedulares tienen una pared más gruesa, un mayor diámetro y una mayor longitud que las arteriolas eferentes de las nefronas corticales. Cuando dichas arteriolas cruzan la unión

córtico-medular e ingresan a la BEME, la capa muscular comienza a disminuir y luego es reemplazada por los pericitos que rodean a los VRD así, conforme los vasa recta se dividen y descienden, los pericitos llegan a ser más escasos pero aún persisten. Los pericitos son células con un fenotipo similar al observado en músculo liso vascular por lo que son capaces contraerse tanto tangencial como circunferencialmente y responder a hormonas circulantes y factores parácrinos o autócrinos locales como el óxido nítrico, Ang II, adenosina etc. pero aparentemente no están inervados (Pallone y col, 2003). Entonces, el territorio vascular que deriva de las arteriolas eferentes de las nefronas yuxtamedulares tienen dos sitios de control de su flujo: la arteriola per se y los pericitos capilares. Los cortocircuitos periglomerulares (CCPG) por su parte son evidentes en aproximadamente 10% de los nefrones yuxtamedulares de la rata, no muestran autorregulación (Cowley AW , 1997) y consisten en vasos que conectan directamente los vasos preglomerulares con los vasa recta (Casellas y Mimram, 1981), pero que en condiciones de hidropenia su conductancia es muy baja, si no es que nula (Cowley AW ,1997) y dependiente del grado de contracción de los pericitos que rodean los VRD a los que dan lugar. Así y entonces, el hecho de que la infusión intramedular renal de L-NAME, pero no la de vehículo, por un lado haya hecho descender el FSMR y con ello la PHIR en el periodo CTA, y por otro, que haya hecho caer la pendiente de la relación PPR – PHIR durante hidropenia, indica que el FSMR es un determinante primario de la PHIR bajo esta condición.

PHIR en expansión de volumen con y sin L-NAME intramedular renal

Los efectos de la infusión intramedular renal de L-NAME durante la expansión de volumen o durante la post-expansión se manifestaron básicamente en dos hechos: 1) el que la resistencia vascular renal (Z) absoluta no haya caído (Fig.5) y 2) el que no se haya perdido la capacidad autorregulatoria del FSMR (Panel B Fig.9). Este par de eventos sugieren que los VRD que derivan los CCPG no aumentaron su conductancia y que el control del FSMR, bajo esta circunstancia, quedó restringido al control de las arteriolas eferentes de la nefronas yuxtamedulares, las cuales aunque aumentaron globalmente su flujo por la hemodilución, no aumentaron su conductancia vascular renal con el consecuente menor lavado medular renal y probablemente una menor respuesta natriurética y diurética, no obstante que la PHIR se elevó a los mismos niveles encontrados en el grupo sin infusión intramedular renal de L-NAME. Como consecuencia de todo ello, el grupo ESI+L-NAME mostró

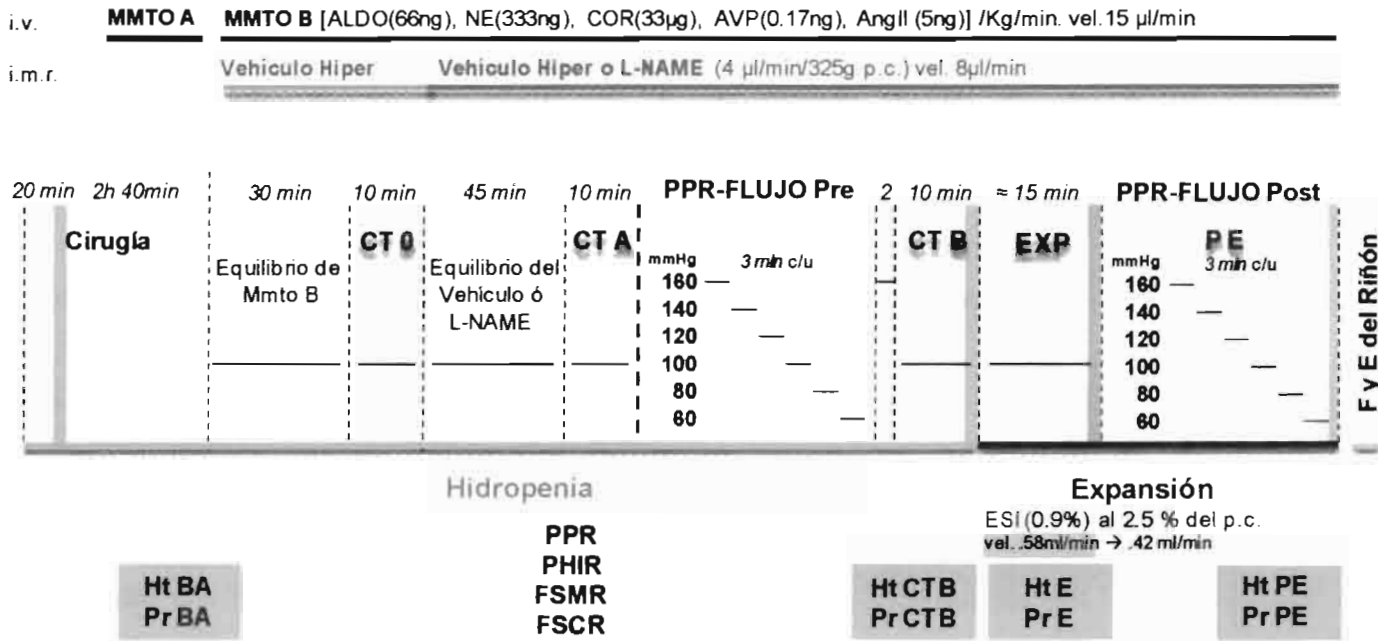
una mayor expansión de volumen plasmático a juzgar por un delta de $E - CTB$ de H_t significativamente mayor en este grupo que en el grupo ESI, lo que a su vez pudiera estar explicando la mayor caída de viscosidad (delta de η) en este grupo que el grupo ESI, lo que definitivamente contribuyó a que la resistencia al flujo sanguíneo (R) hubiera caído de manera semejante en ambos grupos.

Por otro lado, los efectos de la no infusión intramedular renal de L-NAME durante la expansión de volumen o durante la post-expansión se manifestaron básicamente en dos hechos: 1) el que la resistencia vascular renal (Z) absoluta disminuyó y 2) el que se haya perdido en cierta medida la capacidad autorregulatoria del FSMR. Este par de eventos sugiere que los VRD que derivan de los CCPG se abrieron y que el control del FSMR ya no quedó sólo circunscrito a las arteriolas eferentes de la nefronas yuxtamedulares, aumentando globalmente su flujo por la hemodilución y aumentando la conductancia vascular renal con el consecuente mayor lavado medular renal y probablemente una mayor respuesta natriurética y diurética no obstante que la PHIR se elevó a los mismos niveles encontrados en el grupo con infusión intramedular renal de L-NAME. Como consecuencia de todo el grupo ESI mostró una menor expansión de volumen plasmático a juzgar por una delta de $E - CTB$ de H_t significativamente menor en este grupo que en el grupo ESI + L-NAME. Por razones técnico-temporales no fue posible evaluar la respuesta excretora de sal y agua en este estudio, lo cual hubiera enriquecido enormemente la interpretación de estos datos.

Dados los dos escenarios anteriores y puesto que la PHIR se elevó en la misma magnitud durante ESI en ambos grupos así como también el que la PHIR haya sufrido un incremento similar en ambos grupos durante el subprotocolo de $PPR - \delta FSMR - \delta PHIR$ en la post-expansión, sugiere que un mecanismo extrarenal poderoso ligado a la expansión de volumen e independiente de que exista o no autorregulación hemodinámica del FSMR, bajo condiciones de hemodilución y de aumento de FSMR fue capaz de propiciar el aumento en PHIR. Por razones de orden técnico del presente experimento (necesidad de alcanzar una PAM arriba de 150 mmHg en los sub-protocolos), la única hormona que no fue administrada en el clamp hormonal fue Péptido Natriurético Auricular (PNA), de manera que fue a la única hormona que en este escenario se le permitió variar. La concentración plasmática de PNA es función directa de la presión venosa central, la cual a su vez es función directa del grado de expansión extracelular (Fried & Stein, 1988).

Entonces, dado que el grupo ESI + L-NAME mostró mayor grado de expansión de volumen que el grupo ESI, es probable que en aquel la concentración de PNA haya sido discretamente mayor en el grupo ESI, de manera que ello pudo haber compensado la discreta pero definitiva diferencia de resistencia vascular renal (Z) existente entre grupos. Por otro lado, se sabe que los efectos de la PNA sobre la excreción urinaria de sodio se ven potenciados por ESI (Cowley AW, 1992) y aun cuando se desconoce con precisión el mecanismo de dicha potenciación, se ha propuesto que es a través del aumento en PHIR (García Estañ y col, 1990). Más aún, se sabe que PNA aumenta la permeabilidad vascular sistémica a proteínas, lo cual a nivel renal podría aumentar la presión oncótica intersticial renal (Renking EM y col, 1996) y a su través aumentar de manera selectiva la PHIR bajo este escenario. Por lo expuesto, podemos proponer que PNA podría constituir al menos uno de los mecanismos extrarenales postulados para explicar el aumento de PHIR durante la expansión de volumen en el presente experimento. A favor del planteamiento anterior está el hecho de que la resección auricular bilateral en perro, que abole el aumento de PNA ocasionado por ESI, se asocia con una respuesta natriurética y diurética atenuada (Stewart HM y col, 1992). Por otro lado, el aumento en la producción sistémica endotelial de ON a consecuencia del aumento en la tensión de deslizamiento (shear stress) propiciado por el aumento de gasto cardíaco inducido por la ESI, podría constituir un mecanismo que coadyuvaría al aumento de FSMR en los dos grupos del presente estudio, aunque en este caso sería necesario plantear que este mecanismo extramedular renal respetaría los mecanismos intersticiales renales de autorregulación hemodinámica del FSMR. A favor de esta alternativa están, por un lado, los experimentos de Atucha NM y col (1994) quienes reportaron que la inhibición de la SON sistémica por la administración intravenosa de L-NAME (10 µg/min/kg) significativamente atenuó el aumento de FSMR inducido por ESI en rata Wistar y atenuó el aumento de PHIR inducido por la ESI en la rata Sprague Dawley, y por otro, los experimentos de Nakamura y col (1998) quienes documentaron que la inhibición sistémica de la SON con L-NAME (5µg min⁻¹kg⁻¹, i.v.) en ratas con expansión semiaguda de volumen extracelular atenuó las respuestas de PHIR a cambios de PPR. Entonces, es plausible plantear que la hemodilución y el aumento de FSMR en ESI, constituyen factores condicionantes no causales, necesarios pero no suficientes, para inducir el observado aumento de PHIR en ESI

Figura 1.



i.a.

Protocolo Experimental

ESI (n=9)

	BA	CT0	CTA	CTA-CT0	CTB	CTB-CT0	CTB-BA	E	E-CTB	PE	PE-E
Ht (%)	50.70 ± 0.49	-	-		55.54 ± 0.95 [‡]		4.83 ± 1.22	47.54 ± 1.27 ^{‡‡}	7.99 ± 0.71	47.83 ± 1.10	0.28 ± 0.24
[Pr]p(g/dL)	5.15 ± 0.05	-	-		4.80 ± 0.06 [‡]		-0.36 ± 0.08	3.23 ± 0.08 ^{‡‡}	1.57 ± 0.07	3.21 ± 0.09	-0.02 ± 0.02
PHIR	-	3.26 ± 0.32	3.29 ± 0.34	0.03 ± 0.07	1.97 ± 0.22	-1.28 ± 0.20	-	5.53 ± 0.52	3.56 ± 0.44	-	-
			% δ CTA-CT0		% δ CTB-CT0			% δ E-CTB			
FSMR	-	0	6.69 ± 1.71		-8.23 ± 3.58		-	33.73 ± 4.70	-	-	-

En el tiempo

[‡] vs Ctrl BA 0.0021, ^{‡‡} vs Ctrl B 0.0001

[‡] vs Ctrl BA 0.0016, ^{‡‡} vs Ctrl B 0.0001

ESI + L-NAME (n=9)

	BA	CT0	CTA	CTA-CT0	CTB	CTB-CT0	CTB-BA	E	E-CTB	PE	PE-E
Ht (%)	48.72 ± 0.52 [†]	-	-		55.85 ± 1.19 ^ξ		7.13 ± 1.06	45.52 ± 1.30 ^{ξξ}	10.33 ± 0.60 ^φ	45.67 ± 1.54	0.15 ± 0.42
[Pr]p(g/dL)	4.89 ± 0.16	-	-		4.68 ± 0.16		-0.21 ± 0.23	2.96 ± 0.09 ^{μξξ}	1.72 ± 0.08	2.84 ± 0.10 [†]	0.11 ± 0.04
PHIR	-	2.78 ± 0.45	2.27 ± 0.34 [*]	-0.51 ± 0.19	1.60 ± 0.53	-1.18 ± 0.43	-	5.82 ± 1.17	4.22 ± 0.72	-	-
			% δ CTA-CT0		% δ CTB-CT0			% δ E-CTB			
FSMR	-		-14.80 ± 3.12 ^{§§}		-24.76 ± 6.85 [*]		-	49.85 ± 13.06	-	-	-

Entre grupos

* p=0.05, [‡] p=0.04, ^φ p=0.03, [†] p=0.02, ^{§§} p=0.0001

En el tiempo

^ξ vs Ctrl BA 0.0001, ^{ξξ} vs Ctrl B 0.0001

Tabla 1

Respuesta de Hematocrito

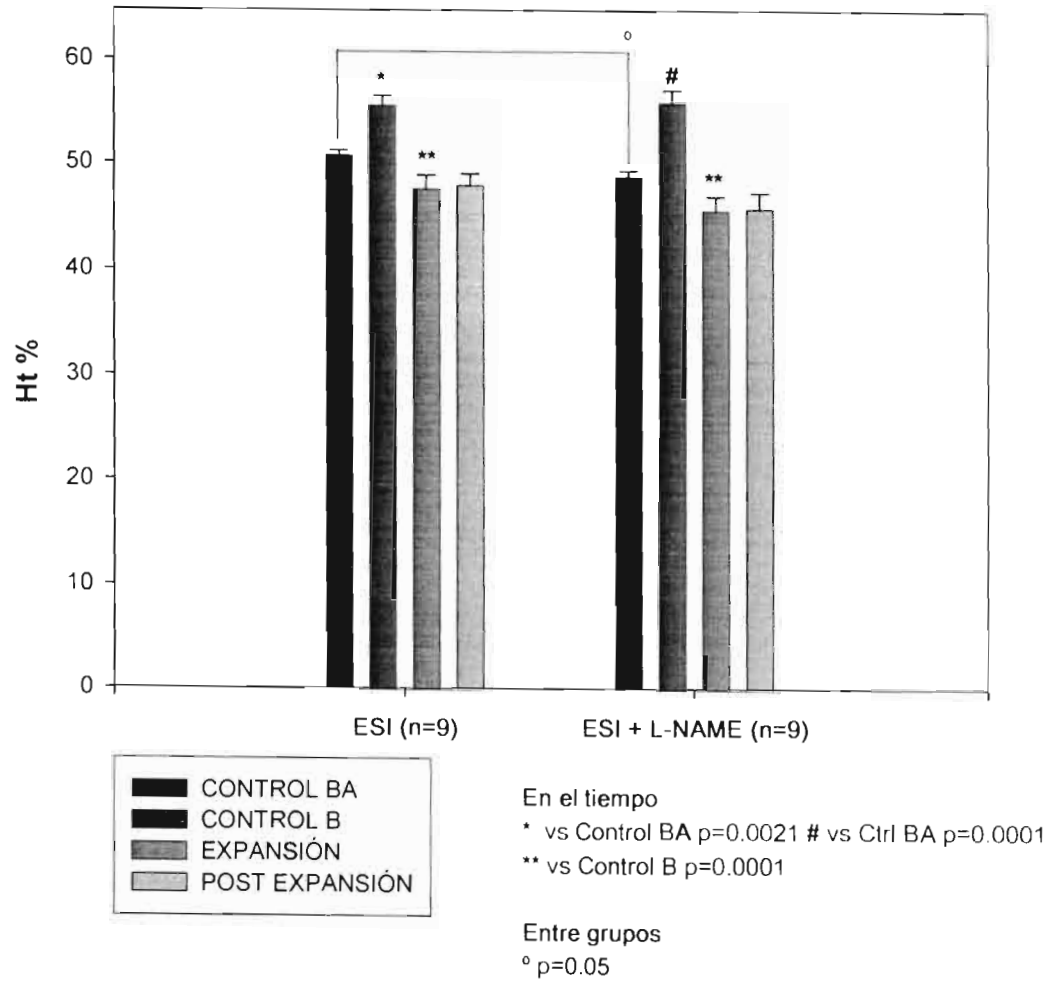


Figura 2.

Respuesta de Proteinas Plasmáticas

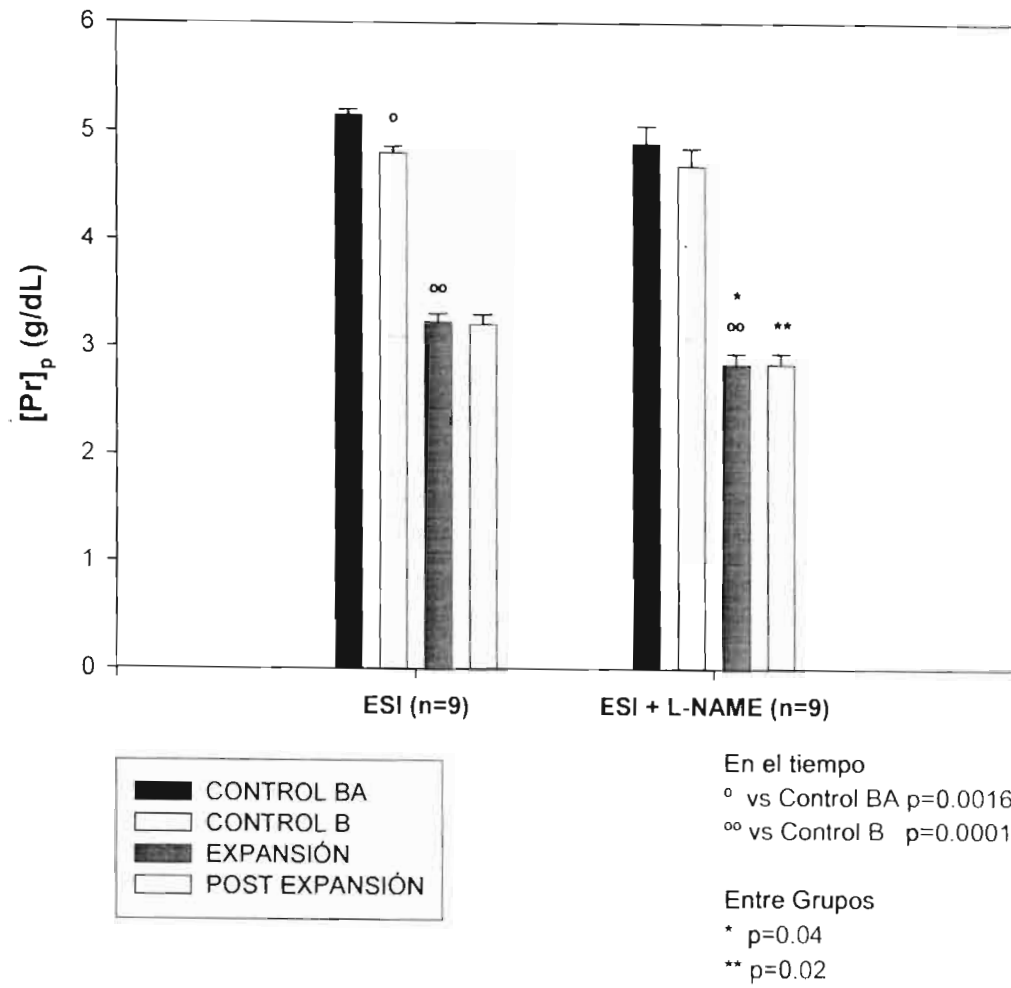


Figura 3.

Respuesta de FSMR en Hidropenia y ESI

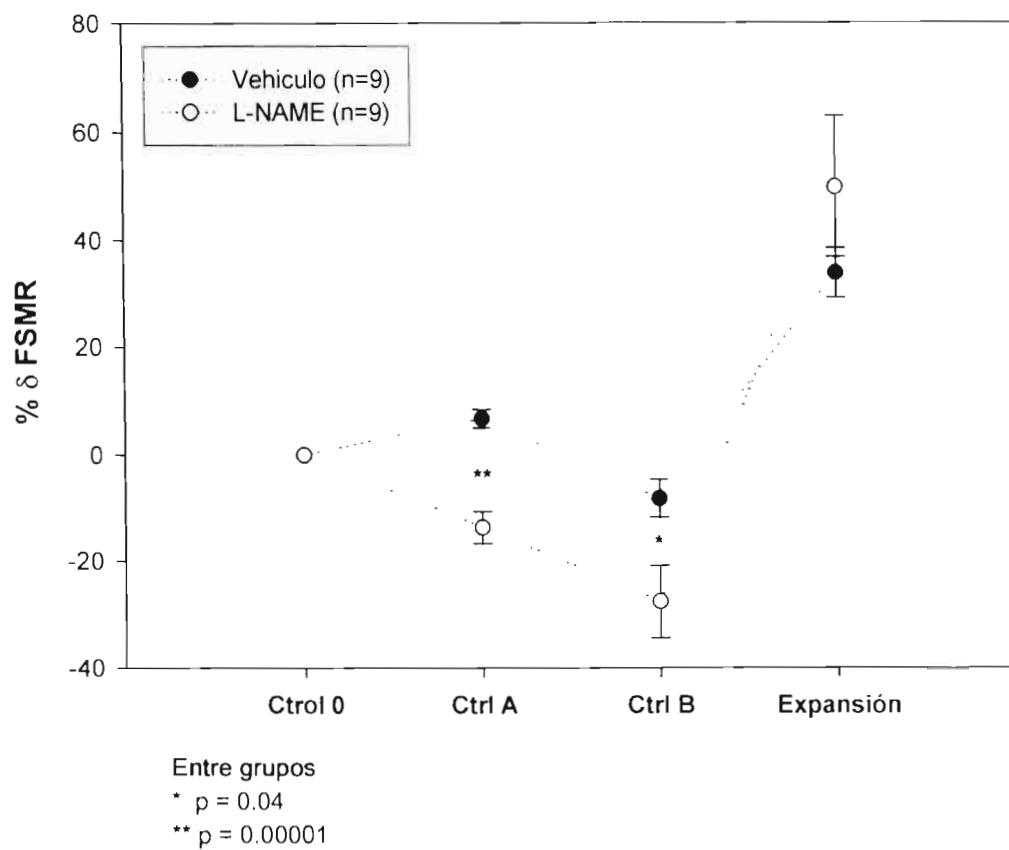


Figura 4.

Respuesta de la Resistencia al Flujo Sanguíneo y sus componentes en Hidropenia y ESI

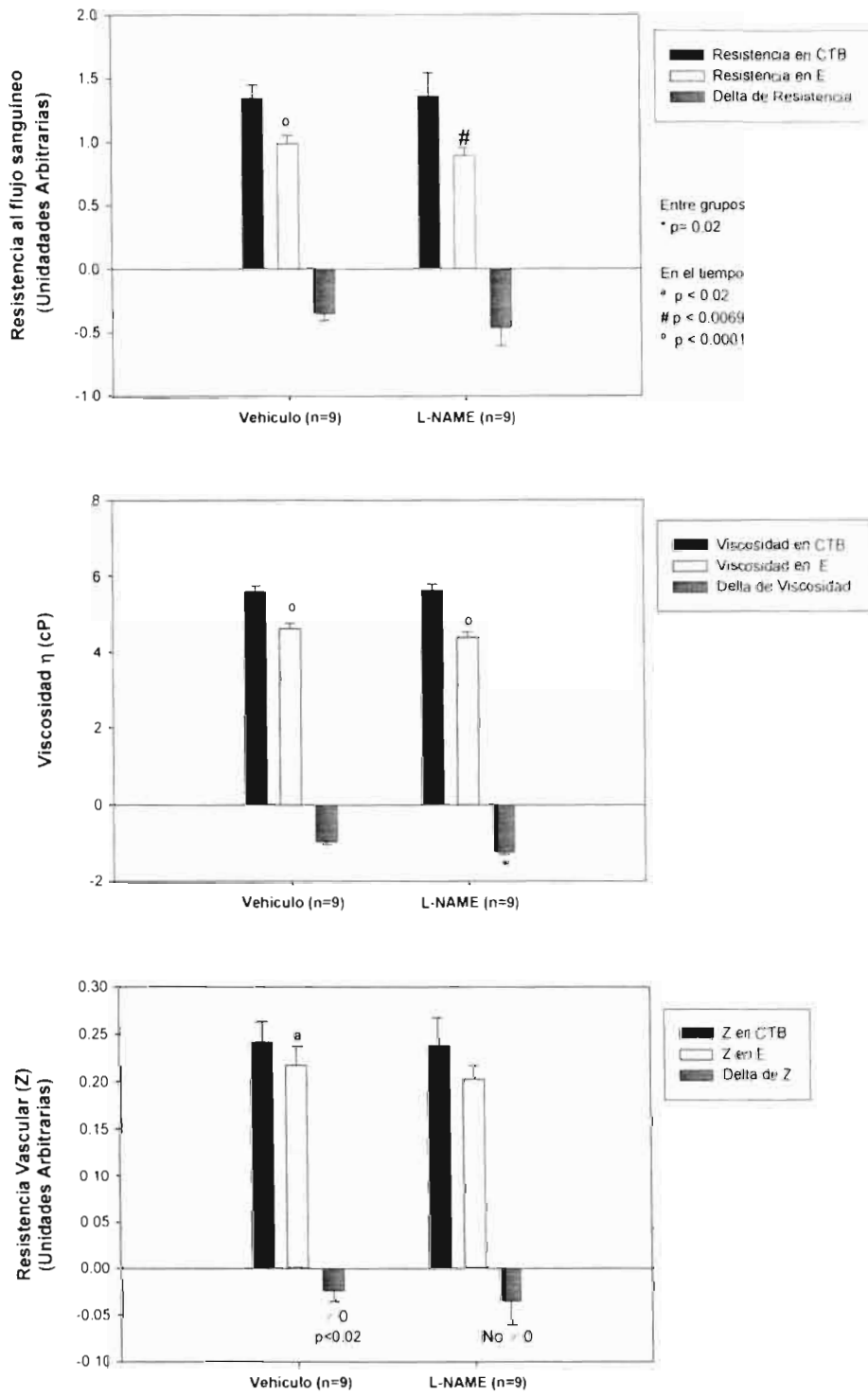
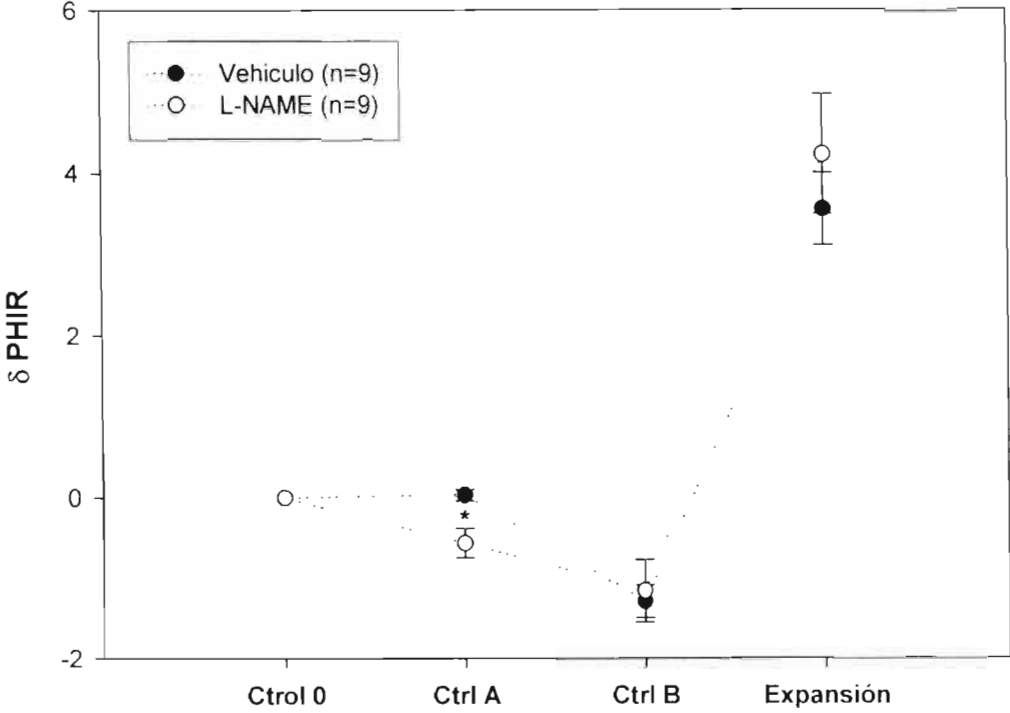


Figura 5.

Respuesta de PHIR en Hidropenia y ESI



Entre grupos
* p = 0.03

Figura 6.

Relación PPR - d PHIR en Hidropenia y Post-Expansión

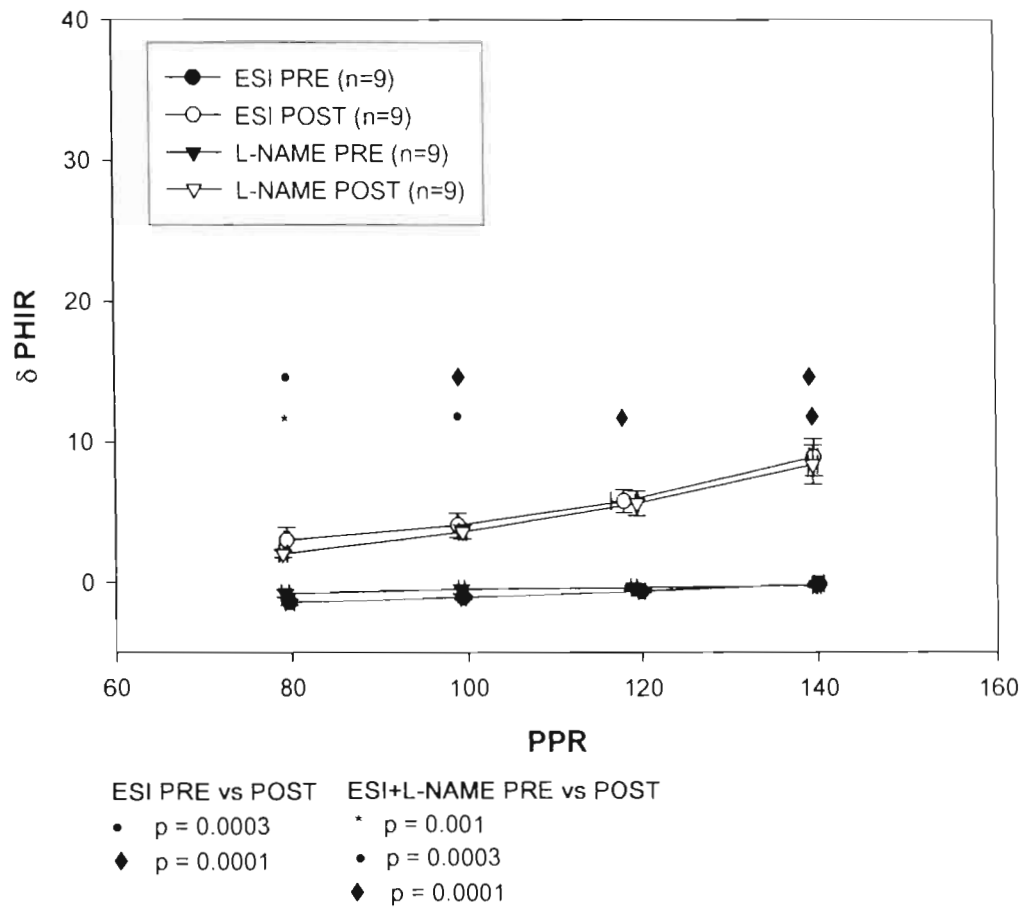


Figura 7.

Relación PPR- % δ FSMR Hidropenia vs Post-Expansión

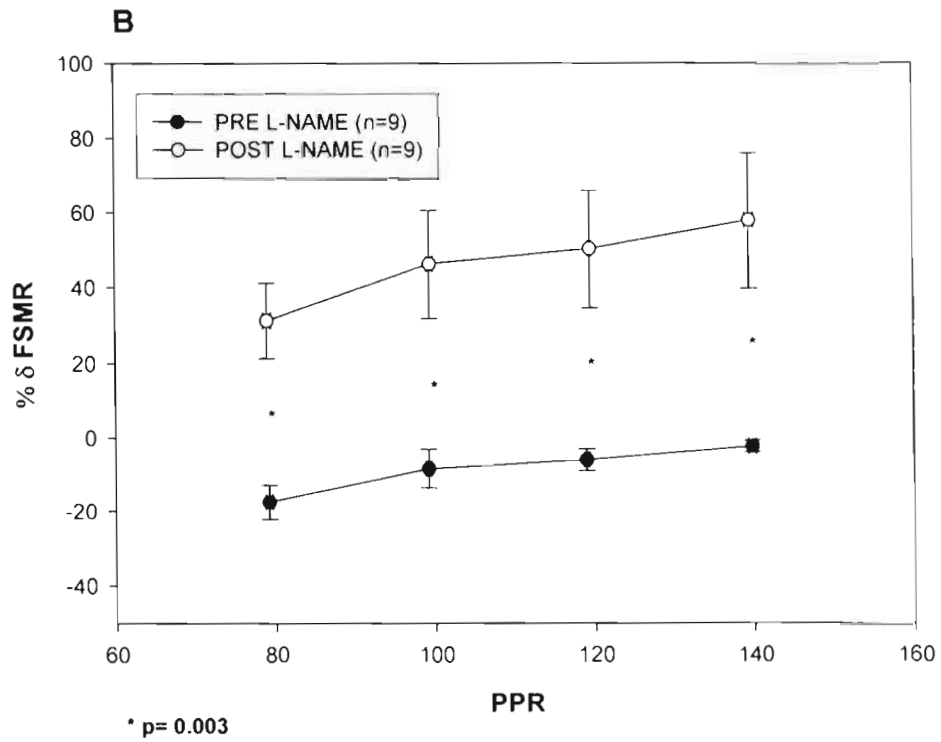
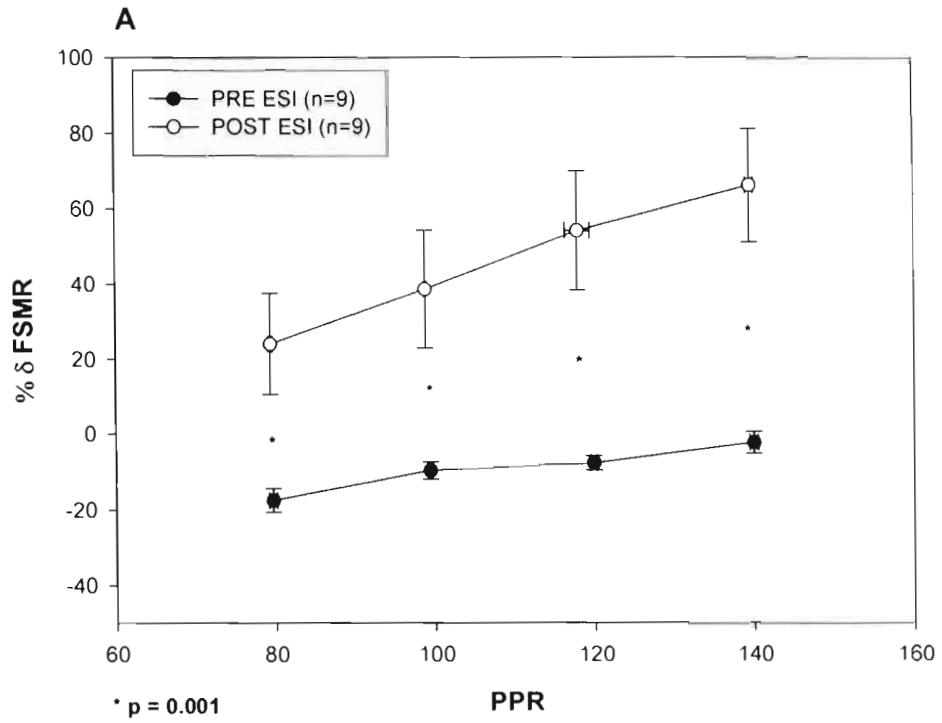


Figura 8.

Relación PPR - %δ FSMR en Hidropenia y Post - Expansión
(Respuestas Autorregulatorias)

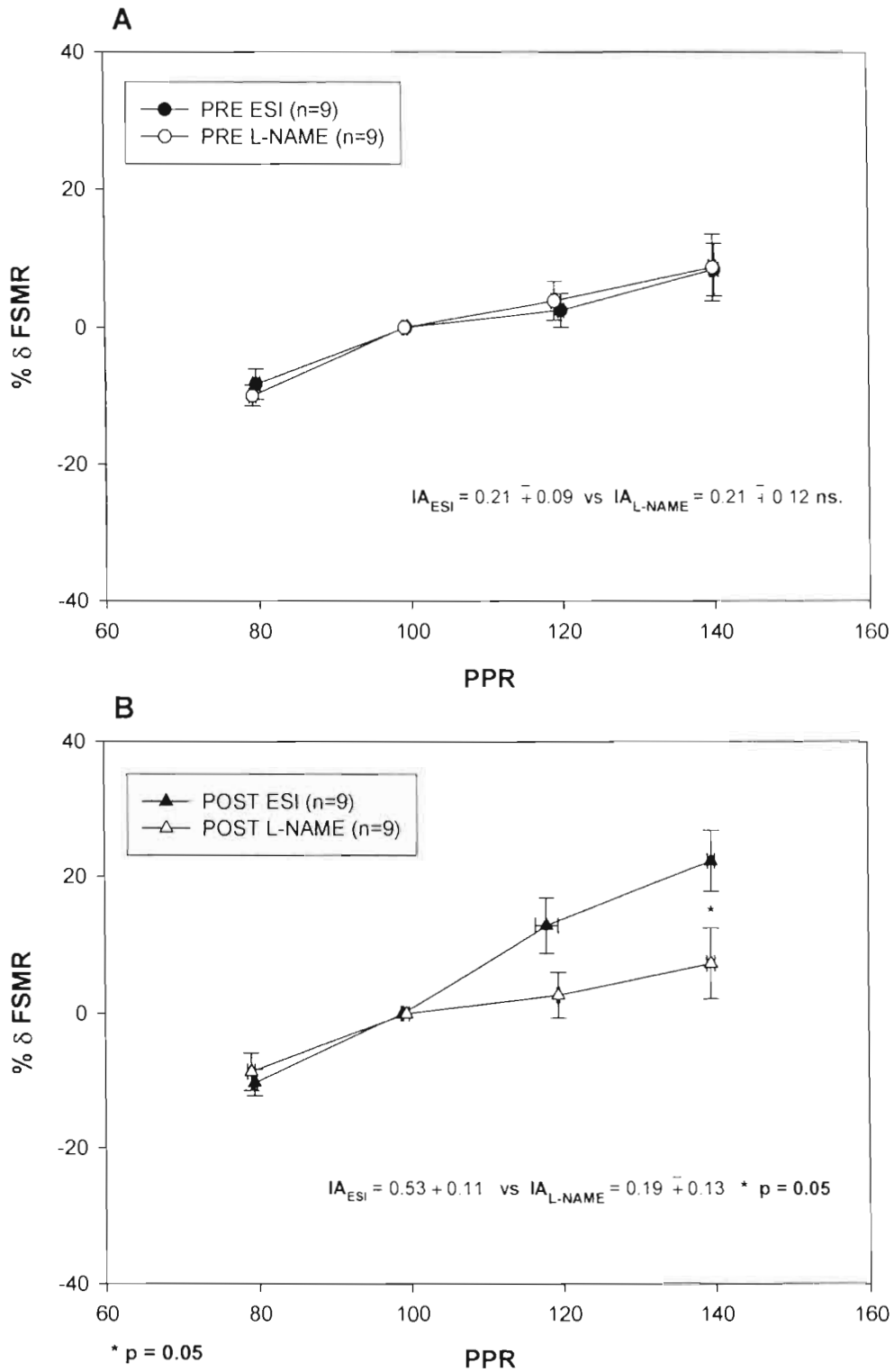


Figura 9.

Respuesta a la Expansión de Volumen

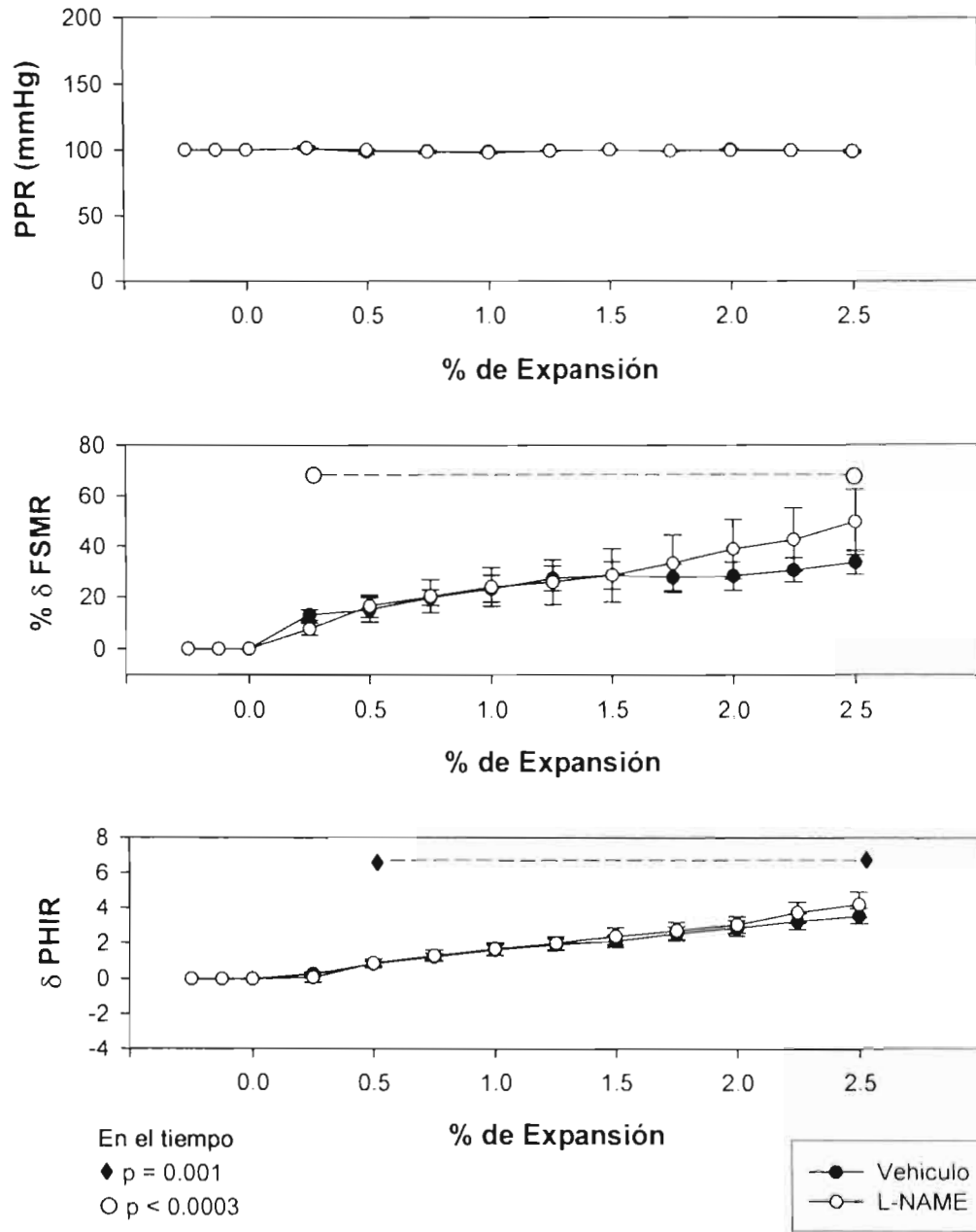


Figura 10.

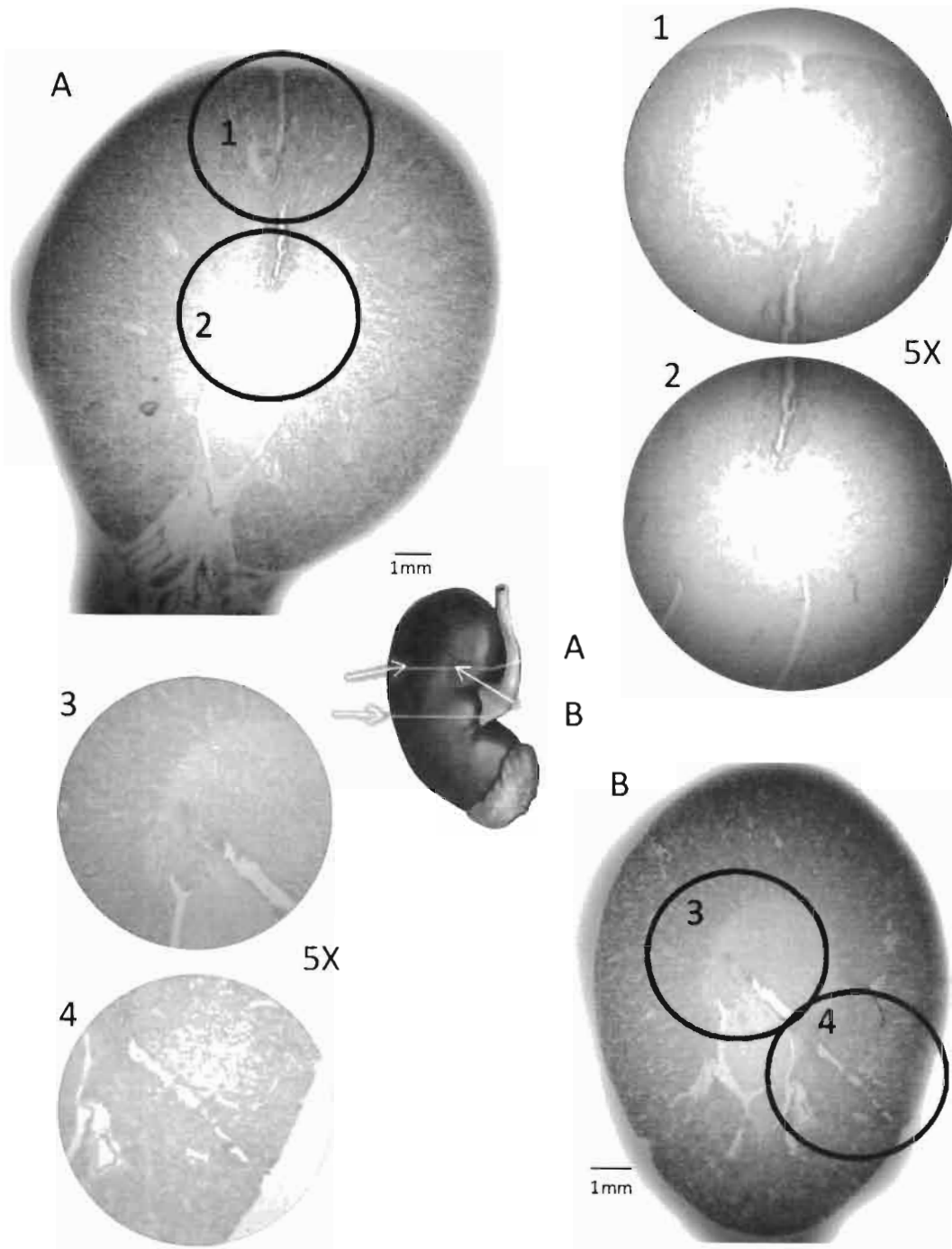


Figura 11.

ANEXOS

ANEXO A

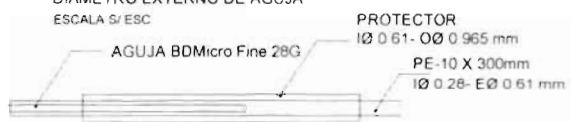
Construcción del Ocluser Aórtico

El ocluser aórtico se construyó con: una jeringa Plastipak[®] para Tuberculina de 1ml (REF 302579, Beckton Dickinson, Méx) y una aguja Micro Fine[®] IV 28G color gris) x 12.7mm 1ml diámetro de 0.28mm (Beckton Dickinson), recortada a 10mm de longitud previamente pulida y sin filo e insertada en su totalidad (10mm) en un catéter PE10 de 300 mm de longitud (Intramedic, Clay Adams BD). Para asegura la transmisión neumática cada unión del catéter fue sellado con cianoacrilato. Al extremo distal le fue insertado de 2 a 3mm de recorte de la misma aguja (28G) previamente pulidos ambos extremos, para posteriormente introducirse la punta del catéter con la aguja, dentro de un tubo Si-lastic PE 60 de 20mm de largo (se introdujo aproximadamente 10mm). Antes de esta maniobra el Si-lastic es introducido en dos perforaciones con diámetros de .995mm y .965mm de un anillo de PE-280 de 3mm, se insertó primero en su parte proximal por el orificio de mayor diámetro para posteriormente pasar por el segundo orificio (.965mm) de esta manera formando una secante al anillo, el Si-lastic es restirado y asegurado con tres nudos dobles, (uno antes del inicio de la aguja otro en medio y el tercero sobre la aguja lo más próximo al anillo). La jeringa y el catéter fueron previamente llenados con agua (500 µL) y purgados (de cualquier contenido de aire), para finalmente ser asegurados en su parte más distal por un nudo doble restirando el Si-lastic contra el anillo y así cerrando la luz de este. (Véase Diagrama OA).



DETALLE D1

DIAMETRO EXTERNO DE AGUJA
ESCALA 5/ ESC



PROTECTOR

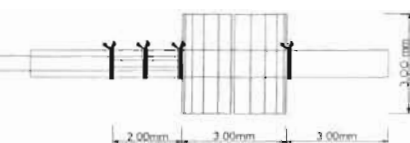
\varnothing 0.61- \varnothing 0.965 mm

PE-10 X 300mm

\varnothing 0.26- \varnothing 0.61 mm

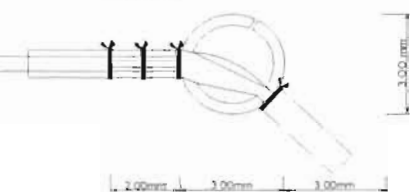
DETALLE D1

CONEXION AGUJA- PE 10 Y PROTECTOR
ESCALA 20 1



DETALLE D2

VISTA SUPERIOR OCLUSOR AÓRTICO
ESCALA 20 1



DETALLE D2

SECCIÓN LATERAL OCLUSOR AÓRTICO
ESCALA 20 1

OCLUSOR AÓRTICO

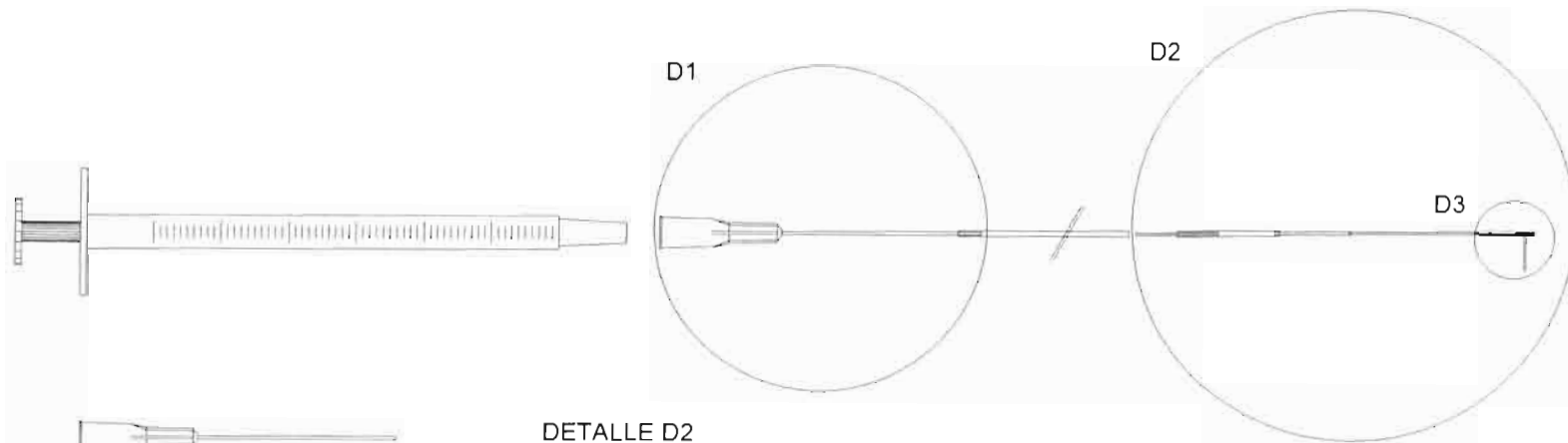
Laboratorio de Fisiología Cardio-Renal Integrativa

Juan Humberto Morales Loredo

ANEXO B

Construcción del Catéter Intersticial Medular Renal

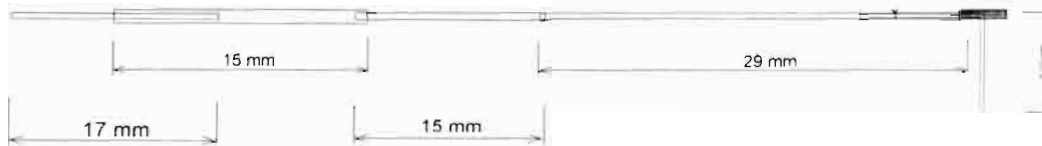
El catéter intersticial medular renal se construyó con: una jeringa Plastipak[®] de 1ml, y una aguja Yale[®] 22G color gris recortada a una longitud de 180 mm pulida en la punta e insertada (10mm) en un catéter PE10 de 120 mm de longitud (EsteriFlex[®], Trakar S.A, Méx). Al extremo distal le fue conectado el conector final, que esta constituido por: una aguja 22G previamente pulidas y sin filo de ambos lados de 18 mm conectada a un catéter tygon[®] PE 60 de 15 mm este a su vez le fue es insertado de 2 a 3mm en un catéter PE 50 de 15 mm de longitud y finalmente un catéter de 29 mm conectado a una aguja 30G de 12.5 mm pulida y sin filos en ambos extremos, doblada de a 7 mm y 5.5 mm. Finalmente se coloca la base semicircular hecha de un PE205.



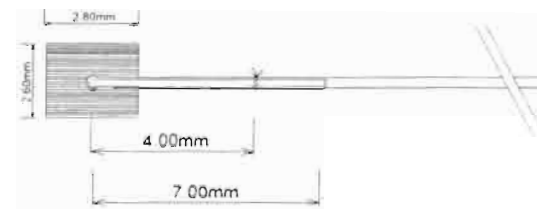
DETALLE D1
AGUJA 22G X 180mm

DETALLE D2

CONECTOR FINAL CATÉTER INTERSTICIAL MEDULAR RENAL
ESC 2.5.1



DETALLE D3
AGUJA 30G X 12.5 mm 90° C/BASE
ESC: 5.1



CATÉTER INTERSTICIAL

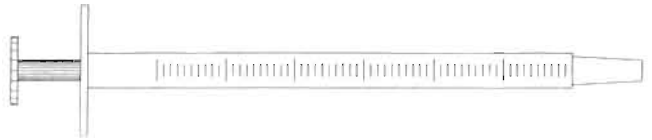
Laboratorio de Fisiología Cardio-Renal Integrativa

Juan Humberto Moraes Loredo

ANEXO C

Construcción del Catéter subcapsular

El catéter subcapsular se construyó con: una jeringa Plastipak[®] para tuberculina de 1ml, adosada a una aguja Yale Ultra Fine[®] 22G x 32 mm (Beckton Dickinson), recortada a 30mm de longitud sin filo en la punta e insertada (10mm) en un catéter PE50 de 400 mm de longitud (Intramedic, Clay Adams BD). En su extremo contrario el catéter PE50 fue conectado a un cateter PE10 de 60mm, del cual su extremo libre fue cortado en bisel a 149°. Cada unión del catéter-catéter o catéter-aguja fue sellada con cianoacrilato.

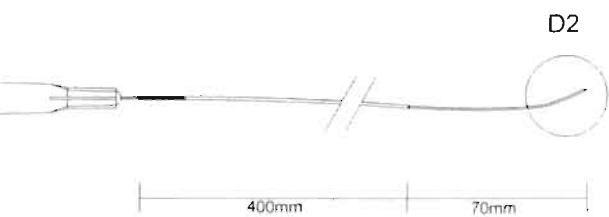


ESCALA 20 1



DETALLE D2

PUNTA DEL CATÉTER INTERSTICIAL PE-10 149°
ESCALA 20 1



CATÉTER SUBCAPSULAR

Laboratorio de Fisiología Cardio-Renal Integrativa

Juan Humberto Morales Loredo

REFERENCIAS

- Akaike, HA.** New look at the statistical model identification. *IEEE Trans. Automat. Contr. AC* ; 19:716 -723, 1974.
- Atucha NM, Ramírez A, Quesada T, García-Estañ J.** Effects of nitric oxide inhibition on the papillary blood flow response to saline-induced volume expansion in the rat. *Clinical Science* 86:405-409, 1994.
- Casellas D and Mimram A.** Shunting in the renal microvasculature of the rat: a scanning electron microscope study of corrosion casts. *Anal. Rec.* 20: 237-248, 1981.
- Cowley AW.** Long-term control of arterial blood pressure. *Physiol. Rev* 72:231-300, 1992.
- Cowley AW Jr.** Role of the renal medulla in the arterial blood pressure regulation. *Am J Physiol* 273: R1-R15, 1997.
- Earley LE, Friedler RM.** Changes in Renal Blood flow and possibly the intrarenal distribution of blood during the natriuresis accompanying saline loading in the dog. *J Clin. Invest.* 44:929 941, 1965.
- Fadem SZ, Hernández Llamas G, Patak RV, Rosenblatt SG, Lifschitz MD, Stein JH.** Studies on the mechanism of sodium excretion during drug-induced vasodilatation in the dog. *J. Clin. Invest.* 69:604-610, 1982.
- Fenoy FJ, Roman JR.** Effect of volume expansion of papillary blood flow and sodium excretion. *Am. J. Physiol* 29: F813-F822, 1991.
- Fried TA, Stein JH.** The physiological role of atrial natriurética peptide in acute volume expansion. *Advances in atrial natriurética research. Vol II. Am. Society of Hypertension Symposium Series. Cap13:101-107*, 1988.
- García-Estañ J, Roman RJ.** Role of renal interstitial hydrostatic pressure in the pressure diuresis response. *Am. J. Physiol.* 256:F63-F79, 1989.
- García-Estañ, Roman RJ.** Role of renal interstitial hydrostatic pressure in natriurética response to ANP. *Am. J. Physiol.* 258:R1333-R1339, 1990.
- Kaiser L.** Adjusting for baseline: change or percentage change? *Statistics in Medicine* 8:1183-1190, 1989.
- Krier JD, Romero JC.** Systemic inhibition of nitric oxide and prostaglandins in volume-induced natriuresis and hypertension. *Am J Physiol* 274:R175-180, 1998
- Majid DSA, Godfrey M, Navar LG.** Pressure natriuresis and renal medullary blood flow in dogs. *Hypertension* 29:1051-1057, 1997.

Majid DSA, Said KE, Omoro SA. Renal interstitial hydrostatic pressure responses to nitric oxide-dependent and independent vasodilators in anesthetized dogs.

Hypertension 32:A617, 1998.

Majid DSA, Said K, Omoro SA. Response to acute change in arterial pressure on renal medullary nitric oxide activity in dogs. Hypertension 34:832-836, 1999.

Majid DSA, Said KE, Omoro SA, Navar LG. Nitric oxide dependency of arterial pressure-induced changes in renal interstitial hydrostatic pressure in dogs. Cir.Res. 88:347-351, 2001.

Mattson LD, Roman JR, Cowley WA. Role of nitric oxide in renal medullary papillary blood flow and sodium excretion. Hypertension 19:766-769, 1992

Mattson LD, Lu S., Roman JR, Cowley W.A. Relationship between renal perfusion pressure and blood flow in different regions of the kidney. Am. J. Physiol. 264: R578-R583, 1993.

Marchand GR, Ott CE, Lang FC, Greger RF and Knox FG. Effect of secretin on renal blood flow, interstitial pressure and sodium excretion. Am J Physiol 232:F147-F151, 1997

Martín Pérez S. El cambio en la concentración de proteínas plasmáticas y en el hematócrito son determinantes del cambio en presión hidrostática Intersticial Renal en la expansión salina. Tesis de Maestría, PCBB, Facultad de Medicina, UASLP, 2006.

Merrill EW. Rheology of blood. Physiol Rev. 49: 863-888, 1969.

Morsing P, Stenberg A, Casellas D, Mimran A, Müller-Suur C, Thorrup C, Holm L, Persson AE. Renal interstitial pressure and tubuloglomerular feedback control in rats during infusion of atrial natriuretic peptide (ANP). Acta Physiol. Scand. 146:393-398, 1992.

Nakamura T, Alberola AM, Salazar FJ, Saito Y, Kurashina T, Granger JP, Nilsson GE. Signal processor for laser Doppler tissue flowmeters. Medical and Biological Engineering and Computing 22:343-348, 1984

Osgood RW, Reineck HJ, Stein JH. Further studies on segmental sodium transport in rat kidney during expansion of the extracellular fluid volume. J. Clin. Invest. 62:311-320, 1978.

Pallone TL, Turner MR, Edwards A, Jamison R. Countercurrent exchange in the renal medulla. Am. J. Physiol. 284:R1153-R1175, 2003.

Renkin EM, Tucker VL. Atrial natriuretic peptide as a regulator of transvascular fluid balance. *NIPS* 11:138-143, 1996.

Shlomoh S, R Y Z, Chen RD, Carlin FC, Fan KM, Jan and Chien S. Effects of blood viscosity on plasma renin activity and renal hemodynamics. *Am. J. Physiol.* 250: F40-F46, 1986.

Stewart JM, Dean R, Brown M, Diasparra D, Zeballos GA, Schustek M, Gewitz MH, Thompson CI, Hintze TH. Bilateral atrial appendectomy abolishes increased plasma atrial natriuretic peptide release and blunts sodium and water excretion during volume loading in conscious dogs. *Circ Res.* 70:724-32, 1992.

