

Regulación del volumen extracelular en pacientes con trasplante renal tratados con o sin ciclosporina A: papel del guanosin monofosfato cíclico y del péptido natriurético atrial

C. Blum*, C. Caramelo, R. Garvía, A. López Farré, M. J. Gallego, S. Casado, L. Hernáudo y J. J. Plaza

* Fundación Renal. Laboratorio de Nefrología. Fundación Jiménez Díaz. Madrid.

RESUMEN

En trabajos recientes con animales de experimentación se ha sugerido que la ciclosporina A (CsA) puede afectar a mecanismos vasculares y renales dependientes de guanosin monofosfato cíclico (GMPc).

En el presente estudio, realizado en pacientes con trasplante renal tratados con y sin CsA, hemos examinado: a) los cambios en el mecanismo de regulación del volumen extracelular y función renal que involucran al GMPc y al péptido natriurético atrial (PNA). Para valorar los sistemas reguladores de volumen y natriuresis, se utilizaron maniobras que disminuyen (furosemida i.v.) o incrementan (infusión de salino) el volumen extracelular.

Se estudiaron varias características de los paciente5 trasplantados, desde el punto de vista de los mecanismos dependientes del GMPc/PNA. Los pacientes trasplantados presentaron niveles elevados de GMPc urinario, comparados con los controles. Sin embargo, el GMPc plasmático fue más alto en los pacientes con una pauta de inmunosupresión que no incluía la CsA (no CsA). Tanto el PNA basal como la relación PNA/GMPc fueron diferentes en los tratados con CsA respecto a los no tratados con CsA. Estos resultados ofrecen los primeros datos de la literatura acerca de los niveles y comportamiento de PNA y GMPc en pacientes trasplantados y sugieren que: a) el trasplante renal induce variaciones significativas en la regulación de los sistemas mediados por el GMPc; b) existen diferencias significativas en el GMPc plasmático y en el PNA plasmático entre pacientes trasplantados recibiendo o no CsA.

Palabras clave: *Trasplante renal. Péptido natriurético atrial. GMP cíclico. Ciclosporina A. Volumen extracelular.*

Recibido: 6-V-93.
En versión definitiva: 26-X-93
Aceptado: 2-XI-93.

Correspondencia: Dr. C. Caramelo.
Laboratorio de Nefrología.
Fundación Jiménez Díaz.
Avda. Reyes Católicos, 2.
28080 Madrid.

CHANGES IN PLASMA VOLUME REGULATING MECHANISMS IN RENAL TRANSPLANT PATIENTS WITH OR WITHOUT CYCLOSPORIN A

SUMMARY

In the present study in transplant patients, treated with or without Cyclosporin A (CsA), we examined the changes in the renal plasma volume-regulating mechanisms involving cyclic guanosine monophosphate (GMPc) and atrial natriuretic peptide (PNA). Manoeuvres that either decrease (furosemide administration) or increase (saline infusion) the extracellular volume were used to challenge the sodium and volume regulatory systems.

The results disclosed several characteristics of the transplant patients, from the point of view of the cGMP/PNA-dependent mechanisms, as follows urinary cGMP levels were higher in the transplant patients compared with controls. Plasma cGMP, however, was higher in non CsA-treated patients compared to CsA patients. Both the baseline PNA and the relationship between PNA and cGMP levels were different in CsA-treated, compared to non CsA-treated patients. The present results offer new data concerning the PNA and GMPc levels in transplant patients and suggest that: a) renal transplantation induces a significant variation in cGMP regulation; b) there are relevant differences in plasma cGMP and baseline plasma PNA between patients receiving or not receiving CsA.

Key words: **Atrial natriuretic peptide. Cyclic guanosine monophosphate. Cyclosporine A. Extracellular volume.**

INTRODUCCION

En años recientes se han obtenido nuevos datos, tanto en humanos como en animales de laboratorio ^{1,2}, sobre el papel de los sistemas mediados por GMPc en la regulación renal y circulatoria. Estos sistemas incluyen mecanismos endotelio-dependientes y endotelio-independientes ^{1,3-5}. Sin embargo, la información acerca de estos sistemas en la fisiopatología humana es aún insuficiente. En particular, no se han publicado resultados acerca de los mecanismos mediados por el GMPc en la regulación de la función renal y del volumen extracelular en pacientes trasplantados. En estos pacientes la nefropatía y la hipertensión arterial son dos consecuencias comunes del uso de CsA ⁶.

La posible patogenia de la toxicidad por CsA ha sido examinada tanto en humanos como en modelos animales y celulares ^{7,8}, proponiéndose varios mecanismos de daño vascular y renal que incluyen alteraciones tanto en la producción de prostaglandinas vasodilatadoras y vasoconstrictoras como efectos directos en células contráctiles ⁹⁻¹². Recientemente se han encontrado alteraciones en animales tratados con CsA en los mecanismos renales y de vasodilatación mediados por GMPc ^{13,14}, pero no se dispone aún de información en humanos. El presente estudio en pacientes fue diseñado para examinar dos hipótesis: a) la existencia de una respuesta anormal en los mecanismos renales mediados por GMPc en pacien-

tes trasplantados; b) la existencia de diferencias en estos mecanismos relacionados con el uso de CsA. Se utilizaron dos maniobras para valorar el sistema regulador de volumen y de sodio: administración de furosemida y expansión del volumen extracelular con suero salino.

PACIENTES Y METODOS

El estudio fue realizado en tres grupos de individuos: a) pacientes trasplantados con triple terapia (CsA, prednisona y azatioprina, n = 7, 4 hombres y 3 mujeres; edad, $37 \pm 5,2$ años); b) pacientes trasplantados tratados con prednisona y azatioprina (n = 6, 4 hombres y 2 mujeres; edad, $41 \pm 7,4$ años); c) controles normales (n = 5, 2 hombres y 3 mujeres; edad, $34 \pm 7,5$ años). En todos los pacientes la función renal fue estable en el año previo al estudio y no hubo proteinuria significativa ni complicaciones durante el período de estudio. Ninguno de los pacientes elegidos padecía diabetes ni había sido sometido a revascularización del injerto. Los datos clínicos y analíticos basales se muestran en la [tabla I](#). La presión arterial media (PAM) fue estimada mediante la fórmula: Presión diastólica + 1/3 presión del pulso. La dosis de inmunosupresores usada fue: CsA, 3-4 mg/kg/día; prednisona, 10 mg/día, y azatioprina, 2-3 mg/kg/día. Todos los pacientes conservaban sus

propios riñones y mantenían una diuresis residual < 200 ml antes del trasplante.

Protocolo de estudio

Después de informar acerca de las características de los procedimientos a emplear y obtener el consentimiento por parte de los pacientes, éstos fueron ingresados en el hospital al menos 48 horas antes del estudio; toda la medicación fue suspendida desde 5 días antes de comenzar el protocolo, y por más de 5 días cuando usaban drogas de vida media prolongada. Simultáneamente, todos los pacientes y controles comenzaron una dieta de 180-220 mEq/día de sodio y 80 g de proteínas. La presión arterial se controló 4 veces al día en forma estandarizada y se tomaron muestras de sangre y de orina para determinaciones de creatinina y electrólitos. En los casos de TA >170/115 mmHg estaba programado utilizar nifedipina sublingual, pero no fue necesario hacerlo por no presentarse esta situación.

El protocolo se llevó a cabo de la manera siguiente: en el primer día del estudio se tomaron muestras de sangre en ayunas, tanto en los pacientes como en los controles, a las 9 h a.m. para bioquímica general, GMPc, PNA y niveles de CsA. Se recogió orina de 12 horas (21 a 9 h) para determinar creatinina, electrólitos y GMPc. Después de la obtención de las muestras se administraron 40 mg de furosemida y 250 ml de agua y se esperó una hora, al final de la cual se tomó nuevamente sangre para GMPc y PNA, y se recogió una muestra de orina para GMPc y electrólitos. Se continuó recogiendo la orina hasta las 9 h del día siguiente. En el segundo día del estudio, en condiciones basales, después del descanso nocturno y en ayunas, se recogió una muestra de orina fresca y se tomaron las muestras de sangre en la mismas circunstancias que el primer día y a las 9 h. Inmediatamente después se administró una infusión de salino 0,9 %, 1.500 ml en 60 min. Se obtuvieron las muestras de sangre a los 30 y 120 min después de comenzar la infusión. A los 120 min de la misma se tomó una muestra de orina para determinar GMPc y electrólitos. Las determinaciones de electrólitos y creatinina fueron realizadas en un autoanalyzer Astra 4 (Beckman, California, USA). Los niveles de GMPc plasmáticos y niveles de CsA en sangre total fueron medidos mediante un radioinmunoensayo comercial (Amersham Internacional, Buckinghamshire, Inglaterra; Incstar Corp., Minnesota, y Sorin, España, respectivamente).

No se realizó estudio cruzado, alternando los procedimientos del primero y segundo día, por considerarse irrelevante la interferencia de la administración

de furosemida del primer día sobre la respuesta a la infusión de salino realizada el segundo día.

Mediciones de GMPc y PNA

El GMPc urinario y plasmático fueron medidos como se describe ^{15,16}. Las muestras de plasma fueron desproteinizadas con ácido tricloroacético 6 % y extraídas con dietil-éter. Las muestras de orina fueron extraídas igual, pero no se las desproteinizó. La sensibilidad del radioinmunoensayo fue 0,5 fmol/tubo, con variaciones intra e interensayo menores de 8,7 y 16,8 %, respectivamente. No se encontraron diferencias en el GMPc urinario entre muestras que contenían o no isobutylmetilxantina (IBMX) 0,1 mM y entre la orina fresca y la recogida durante la noche a 4 °C.

La concentración plasmática de PNA fue determinada según técnicas descritas ¹⁷⁻²¹. El plasma conteniendo EDTA 0,2M, fenilmetilsulfonilfluoruro 10^{-5M} (PMSF) y pepstatina 10^{-5M} fue acidificado con ácido acético y extraído por cromatografía en columnas de Sep-pak C₁₈ (Waters, Massachusetts, USA). La sensibilidad del ensayo fue 10 pg/tubo. Las variaciones intra e interensayo fueron menores de 10 y 14 %, respectivamente.

Estadística

Todos los resultados se expresaron como media ± error estándar de la media (EEM). Para comparar variables múltiples utilizaron Anova y los tests de Fisher y Scheffé. Se utilizó la t emparejada de Student para comparar respecto al basal dentro del mismo grupo, y análisis de regresión lineal para comparaciones entre valores simultáneos de dos variables numéricas.

RESULTADOS

Datos basales (tabla I)

Los dos grupos trasplantados fueron homogéneos en cuanto a edad, sexo, función renal y presión arterial. Como diferencia significativa entre ambos debe destacarse el mayor tiempo transcurrido desde el trasplante en el grupo de los no CsA; tal diferencia se debió a que en 1986 se reemplazó en nuestro hospital la terapia azatioprina/prednisona por la triple terapia. Sin embargo, otras variables relevantes clínicamente, como CCr y presión arterial, fueron idénticas en ambos grupos. Existieron dos diferencias significativas entre los controles y los pacientes: a) en los individuos trasplantados, la función renal fue modera-

Tabla I. Datos clínicos y bioquímicos relevantes de los tres grupos de pacientes

	Tiempo desde el Tx (años)	TAM (mmHg)	CCr (ml/min)
Controles.....	—	79 ± 6,6	126,2 ± 15,9
Grupo CsA	3 ± 0,5	113 ± 44*	71,4 ± 13,4*
Grupo NO-CsA	6,7 ± 0,9**	109 ± 14*	65,8 ± 22,9*

Todos los datos corresponden a la media ± EEM. La tensión arterial media (TAM) fue calculada mediante la fórmula estándar: TAM = tensión arterial diastólica +1/3 presión del pulso. Tx = Trasplante. * p < 0,05 con respecto a los controles. ** p < 0,05 con respecto al grupo de CsA.

damente inferior a la normal; b) los controles fueron todos normotensos, mientras que la presión arterial fue más alta en ambos grupos de pacientes trasplantados. Los niveles de CsA fueron 72 ± 7,4 ng/ml en el grupo de triple terapia y no se detectaron variaciones individuales significativas. No se observaron datos clínicos de repleción o depleción anormales de volumen en ninguno de los individuos estudiados.

Natriuresis y diuresis

Los valores de natriuresis aparecen descritos en la figura 1. Los valores de diuresis siguen una distribución similar (datos no mostrados). En todos los grupos, la natriuresis (fig. 1) se incrementó tanto con la

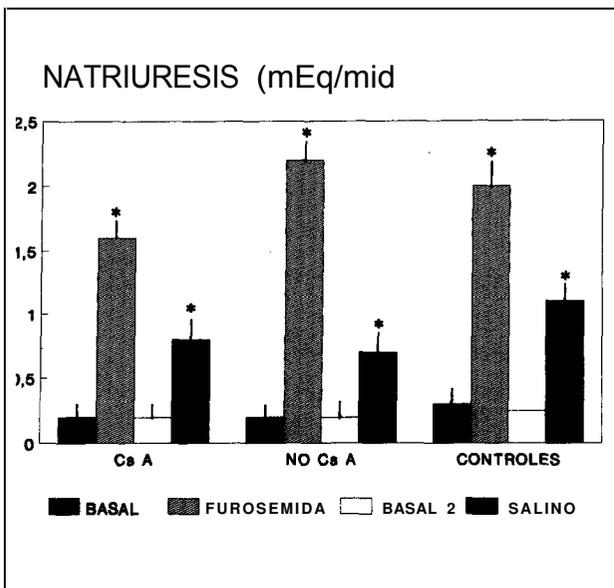


Fig. 1.-Natriuresis(mEq/min) de los tres grupos y en los diferentes periodos. Los datos corresponden a media ± EEM. * p < 0,01 con respecto al basal. Estas determinaciones, así como las ilustradas en las figuras 2, 3 y 4, se realizaron en muestras recogidas durante los periodos reseñados en el apartado Pacientes y métodos.

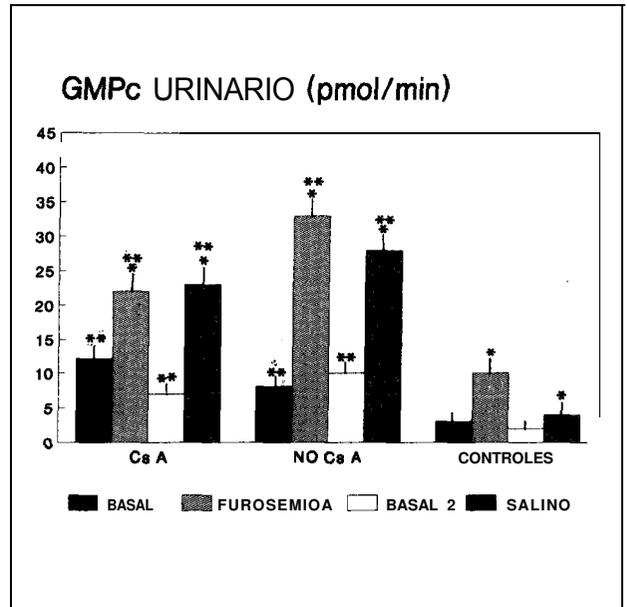


Fig. 2.-GMPc urinario (pmol/min). Los datos corresponden a la media ± EEM. * p < 0,05 con respecto al basal. ** p < 0,05 con respecto a los controles.

furosemida como con la expansión del VEC (p < 0,01). Hubo una tendencia (no significativa) a una menor natriuresis y diuresis inducidas por la furosemida en los pacientes tratados con CsA con respecto a los controles. La respuesta a la furosemida y a la infusión de salino fue similar en los tres grupos.

GMPc urinario y plasmático

Los valores de GMPc urinario se muestran en la figura 2. Tanto la furosemida como la expansión del volumen extracelular incrementaron el GMPc urinario en los tres grupos. No se encontraron diferencias entre los enfermos tratados con y sin CsA, pero se detectó una excreción urinaria de GMPc significativamente mayor en los dos grupos de trasplantados con respecto a los controles a través de todos los periodos. Tal incremento de GMPc es atribuible principalmente al riñón trasplantado, considerando que casi no existía diuresis de los riñones propios. No se encontraron correlaciones entre los valores de GMPc plasmático y urinario (p NS), lo que sugiere que ambas se comportan como variables independientes.

Cuando se expresó el GMPc urinario en función del CCr, no se encontraron cambios significativos de incremento en ambos grupos trasplantados con respecto a los controles (datos no mostrados).

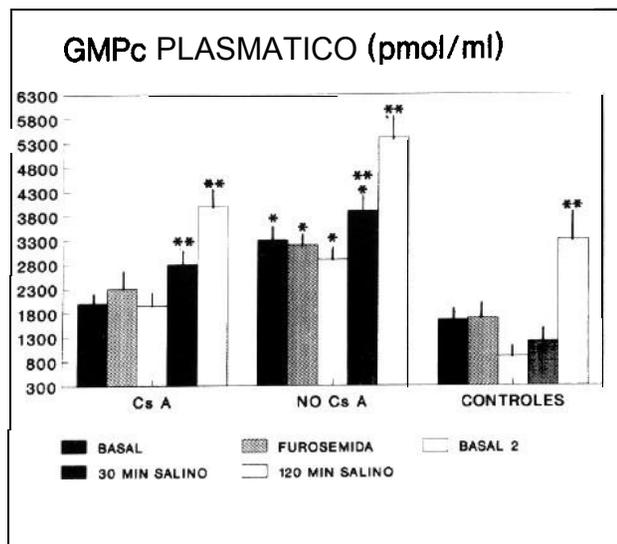


fig. 3-GMPc plasmático (pmo./ml). Los datos corresponden a la media ± EEM.
 * $p < 0,05$ con respecto a los grupos de CsA y controles.
 ** $p < 0,05$ con respecto al basal.

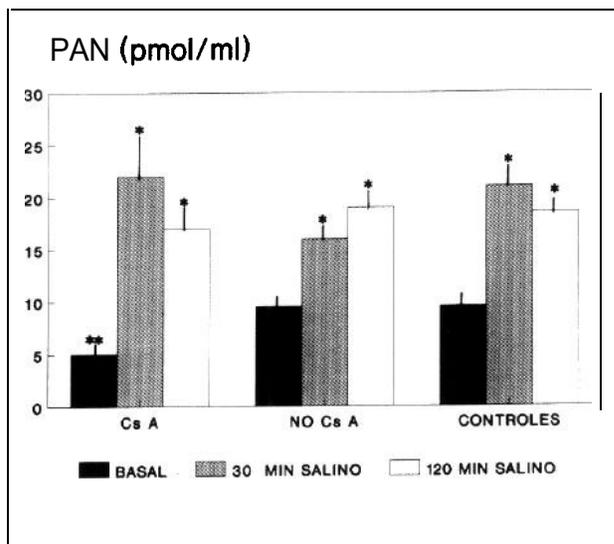


Fig. 4.Péptido natriurético atrial (PNA, pmol/ml). Los datos son la media ± EEM.
 * $p < 0,05$ con respecto al basal.
 ** $p < 0,05$ con respecto a los no Cs A y controles.

Los valores de GMPc plasmático se representan en la figura 3. El GMPc se incrementó con la infusión de salino ($p < 0,05$) y no cambió con la furosemida. Como se demuestra en la figura 3, en todos los períodos el GMPc plasmático fue más alto en el grupo de pacientes sin CsA con respecto a los controles y a los pacientes con CsA. No existió diferencia estadística significativa entre los controles y pacientes tratados con CsA.

Péptido natriurético atrial

Los resultados de las medidas de PNA se muestran en la figura 4. Como han demostrado otros autores en diferentes circunstancias¹⁸⁻²⁰, la infusión de salino incrementó el PNA circulante en los tres grupos. Basalmente el PNA fue más bajo en los pacientes tratados con CsA con respecto a los controles y a los pacientes no tratados con CsA.

Correlaciones entre variables

Se encontró una correlación positiva ($p < 0,05$) entre el GMPc plasmático y el PNA en los tres grupos. Sin embargo, la relación entre CMPc plasmático y el PNA fue diferente en los pacientes tratados o no con CsA ($p < 0,05$), como se muestra en la figura 5. Los valores de la ecuación de regresión fueron $y = 185,8x + 596$ (CsA); $y = 360,8s - 999$ (no CsA) ($p <$

0,05). No se encontraron diferencias significativas entre los controles y los pacientes sin CsA ($y = 314x - 2.224$ en los controles). No hubo correlaciones sig-

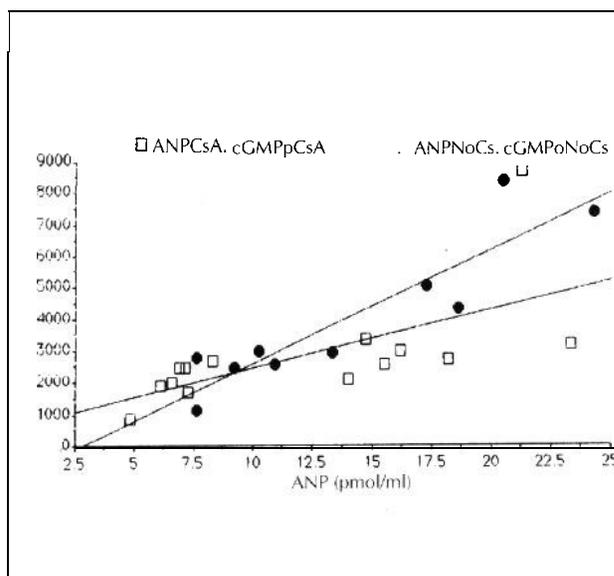


Fig. 5.-Recta de regresión, que relaciona el GMPc plasmático (GMPc) y el péptido natriurético atrial (PNA). Los datos corresponden a ambas variables valoradas simultáneamente, $n = 74$ para los pacientes con CsA y $n = 10$ para los pacientes no CsA. Los valores del PNA corresponden a un paciente no CsA que fue *missed. La inclinación de ambas rectas de regresión fueron significativamente diferentes ($p < 0,05$; ver texto). El GMPc plasmático y el PNA son expresados en pmol/ml.

nificativas entre el GMPc plasmático y urinario, natriuresis o diuresis. Sin embargo, el GMPc urinario correlacionó con la natriuresis y diuresis en los tres grupos ($p < 0,05$): los valores de GMPc urinario fueron diferentes, mientras que la natriuresis y diuresis fueron similares en los tres grupos, por lo que las rectas de regresión fueron diferentes entre los controles y los pacientes ($p < 0,05$), pero similares en los dos grupos de trasplantados entre sí.

Discusión

El presente estudio analizó la respuesta de PNA y GMPc en pacientes trasplantados. Las dos variables principales medidas, el GMPc y el PNA, son sensibles a los cambios del volumen extracelular. Los niveles de PNA son una función de la expansión del volumen extracelular; el GMPc es el mediador intracelular del PNA y sus niveles plasmáticos se relacionan en forma directa con la concentración de PNA. Un hallazgo principal del presente estudio fue la excreción diferente de GMPc en pacientes trasplantados con respecto a los controles; la excreción de GMPc fue uniformemente alta en ambos grupos de trasplantados, tratados o no con CsA. Es conocido que los mecanismos mediados del GMPc incrementan la filtración glomerular y la excreción de agua y sodio ^{1,5,15,22} y, por lo tanto, puede especularse que el incremento de GMPc puede constituir una respuesta adaptativa del riñón trasplantado para manejar la mayor carga de filtración por unidad nefronal. La ausencia de diferencias entre pacientes con y sin CsA sugiere que mientras exista una función renal relativamente preservada, como en el presente estudio, no hay deficiencias en la producción de GMPc renal tanto basal como estimulada. En este sentido, el incremento en el GMPc urinario con furosemida o expansión del volumen extracelular puede también ser un marcador de una respuesta renal preservada en pacientes trasplantados, que puede ser de especial utilidad en los tratados con CsA.

Han de considerarse dos posibles fuentes de GMPc urinario: el GMPc plasmático y el GMPc generado por el riñón, aunque la contribución de este último es probablemente mayor ^{15,21}. Si bien varios tipos de células pueden contribuir a formar este GMPc («nefrogénico» ⁵, los orígenes celulares del incremento del GMPc urinario en pacientes trasplantados no pueden definirse suficientemente a partir de los presentes datos.

Un segundo resultado con importancia biológica potencial implicó al GMPc circulante. El GMPc plasmático está sujeto a la regulación de varios factores; en el presente estudio, su respuesta a las maniobras

de expansión fue definida y consistente, actuando por lo tanto como un marcador del grado de expansión del volumen extracelular. Las diferencias en el GMPc circulante entre pacientes tratados con y sin CsA deben ser interpretadas a la luz de los niveles del PNA en ambos grupos. En los pacientes sin CsA, los valores de GMPc fueron más altos que los normales en relación con los niveles correspondientes de PNA. Estos datos sugieren la posibilidad de que el tratamiento con CsA interfiera con el incremento del GMPc plasmático en el grupo con CsA. No disponemos de datos experimentales ni de la literatura que permitan ilustrar el mecanismo de este efecto; el trastorno puede encontrarse tanto a nivel de la unión del PNA a sus receptores como en la activación de la guanilato ciclasa.

La pequeña pero significativa diferencia en los niveles de PNA basal entre pacientes con y sin CsA podría sugerir la existencia de una disminución del volumen extracelular en pacientes tratados con CsA, favoreciendo así la disminución del PNA plasmático. En este sentido, el incremento de los niveles de PNA después de la infusión de salino en pacientes con CsA podría interpretarse a favor de un cierto grado de depleción de volumen basalmente en este grupo (fig. 4).

Los datos enumerados constituyen un primer aporte al estudio de la regulación de los mecanismos dependientes de PNA y GMPc en pacientes trasplantados. En su conjunto, sugieren la presencia de dos cambios principales: el incremento de GMPc urinario en los pacientes con riñón de trasplante y la respuesta anormal del GMPc plasmático en los pacientes trasplantados con CsA. Si bien su papel inmediato no puede discernirse a partir de estos primeros resultados, ambos datos tienen interés potencial y merecen ser observados en mayor número de enfermos y en individuos tratados con CsA por causas diferentes que el trasplante renal.

Agradecimientos

Este trabajo se financió con ayudas del FISS/807/89, 229/90 y 234/90, de la Fundación Ramón Areces y de la Fundación Renal. G. Blum es becario de Investigación de la Fundación Renal; A. López Farré es un investigador de Boehringer Mannheim/Fundación Jiménez Díaz. Los autores quieren agradecer la colaboración del laboratorio de Bioquímica Clínica de la Fundación Jiménez Díaz y de Elena Rubio en la preparación del manuscrito.

Bibliografía

1. Murad F: Cyclic guanosine-monophosphate as a mediator of vasodilators. *J Clin Invest* 78:1-5, 1986.
2. Moe GW, Legault L y Skorecki KL: Control of extracellular fluid volume and pathophysiology of edema formation. En *The Kidney*, edited by BM Brenner and FC Rector. WD Saunders, Philadelphia: pp. 623-676, 1991.
3. Vanhoutte PM, Rubanyi GM, Miller VM y Houston DS: Modulation of vascular smooth muscle contraction by endothelium. *An Rev Physiol* 48:307-320, 1986.
4. Palmer RMJ, Ashton DS y Moncada S: Vascular endothelial cells synthesize nitric oxide from L-arginine. *Nature* 333:664-666, 1988.
5. Cogan M: Atrial natriuretic peptide. *Kidney Int* 37:1 198-1160, 1990.
6. Myers BD: Cyclosporine nephrotoxicity. *Kidney Int* 30:969-974, 1986.
7. Remuzzi G y Bertani T: Renal, vascular and thrombotic effects of cyclosporine. *Am J Kidney Dis* 13:261-272, 1989.
8. Schachter M: Cyclosporine and hypertension. *J Hypertension* 6:511-516, 1988.
9. Benigni A, Perico N y Remuzzi G: Abnormalities of arachidonate metabolism in experimental cyclosporin nephrotoxicity. *Am J Nephrol* 9:72-77, 1989.
10. Paller MS: Cyclosporine nephrotoxicity and the role of cyclosporine in the living-related donor transplantation. *Am J Kidney Dis* 16:414-416, 1991.
11. Meyer-Lehnert H y Schrier RW: Cyclosporine A enhances vasopressin-induced Ca⁺ mobilization and contraction in mesangial cells: a potential mechanism of nephrotoxicity. *Kidney Int* 39:89-97, 1988.
12. Rodríguez Puyol D, Lamas S, Olivera A y cols.: Actions of cyclosporine A on cultured rat mesangial cells. *Kidney Int* 35:632-637, 1989.
13. Gerkens JF: Cyclosporine treatment of normal rats produce a rise in blood pressure and decrease renal vascular responses to nerve stimulation, vasoconstrictors and endothelium-dependent responses. *J Pharmacol Exp Ther* 250:1105-1112, 1989.
14. Gallego MJ, López-Farré A, Riesco A y cols.: Blockade of endothelium-dependent responses in conscious rats by cyclosporin A. Effect of L-arginine. *Am J Physiol* 264:H708-H714, 1993.
15. Grandes S, Gallego MJ, Riesco A, López-Farré A, Millas I, Hernando L, Casado S y Caramelo C: Mechanisms of the renal effect of agents activating cyclic GMP production by different pathway. *Am J Physiol (Heart Circ. Physiol.)* 261:H1109-H1114, 1991.
16. Meyer-Lehnert H, Caramelo C, Tsai P y cols.: Interaction of atriopeptin II and vasopressin on calcium kinetics and contraction of aortic smooth muscle cells. *J Clin Invest* 242:1407-1411, 1988.
17. Yamaji T, Ishibashi M y Takaku F: Atrial natriuretic factor in human blood. *J Clin Invest* 76:1705-1709, 1985.
18. Shiota J, Kubota M, Hamada C y cols.: Plasma atrial natriuretic peptide during hemodialysis with or without fluid removal. *Nephron* 55:283-286, 1990.
19. Cusson JR, Hamet P, Gutkowska J y cols.: Effects of atrial natriuretic factor on natriuresis and cGMP in patients with essential hypertension. *J Hypertension* 5:435-443, 1987.
20. Sorensen SS, Danielsen H, Andisen A y cols.: Atrial natriuretic peptide and exaggerated natriuresis during acute hypertonic volume expansion in essential hypertension. *J Hypertension* 7:21-29, 1989.
21. Wong KR, Xie MH, Shi LB y cols.: Urinary cGMP as biological marker of the renal activity of atrial natriuretic factor. *Am J Physiol (Renal, Fluid, Electrolyte Physiol)* 24) 255:F1220-F1224, 1988.
22. Curtis JJ, Luke RG, Jones P y cols.: Hypertension in cyclosporine-treated renal transplants is sodium dependent. *Am J Med* 85:134-138, 1988.
23. De Varajan P, Kaskel FJ, Arbeit La y cols.: Cyclosporine nephrotoxicity: blood volume, sodium conservation and renal hemodynamics. *Am J Physiol (Renal Fluid Electrolyte Physiol)* 25) 256:F71 -F78, 1989.
24. Arendt RM, Gorbes AL, Ritter D y cols.: Atrial natriuretic factor in plasma of patients with arterial hypertension, heart failure or cirrhosis of the liver. *J Hypertension (Suppl. 2)* 4:S131-S135, 1986.
25. Weidman P, Saxenhofer H, Ferris C y cols.: Atrial natriuretic peptide in man. *Am J Nephrol* 8:1-14, 1988.
26. Grekin RS, Ling ND, Shenker Y y cols.: Immunoreactive atrial natriuretic hormone levels increase in deoxycorticosterone acetate-treated pigs. *Hypertension* 8 (Suppl. 2):11-16, 11-20, 1986.