

J. H. Hauger-Klevene,⁽¹⁾ L. E. Quihillalt⁽²⁾ y A. E. A. Mitta⁽³⁾

C. N. E. A. Biblioteca	
ARCHIVO PUBLICACIONES	
Nº	AÑO
1	1974

preparación de angiotensina ¹²⁵I

determinación de la actividad plasmática de la renina por radioinmunoensayo ⁽³⁾

A partir de fines de 1959 en que Yallow y Berson (1) describieron la técnica de radioinmunoensayo para la medición de insulina, se empezó a utilizar la misma metodología para la determinación de los niveles de varias hormonas de naturaleza proteica, entre ellas la hormona de crecimiento (2) y el ACTH (3).

La División Moléculas Marcadas, Area Radioisótopos y Radiaciones de la CNEA, se ha ocupado de la marcación y control de: insulina (4), hormona del crecimiento humano (5), hormona tiroestimulante (6), hormona coriónica gonadotrófica (7), hormona luteinizante (8), paratohormona (9) y ACTH (10).

En este trabajo se describe el método usado para la marcación y purificación de Angiotensina I y aplicación en la clínica.

Marcación de Angiotensina I (At I)

La Angiotensina I fue obtenida de la Beckton Dickinson and Co USA.

El método utilizado para marcar la AT I fue el de Hunter y Greenwood (11) y la hormona fue purificada después de la marcación utilizando una resina de intercambio iónico.

Reactivos

- 1) 1 mCi ¹²⁵I Na, libre de portador y reductor. Concentración de actividad 400 m Ci/ml.
- 2) Solución reguladora de fosfato de sodio 0,5 M, ajustada a pH 7,5.
- 3) Solución de Cloramina T (1,5 mg/ml).
- 4) Solución de Metabisulfito de sodio (2 mg/ml).
- 5) Resina De Acidite FF (1,5 meq/ml).

Método de Marcación

En una celda de reacción previamente silicada, colocada en hielo y protegida con película "Parafilm", se añaden:

(1) Miembro de la Carrera del Investigador CONICET - Hospital Rawson, Centro de Medicina Nuclear.

(2) Comisión Nacional de Energía Atómica, División Moléculas Marcadas del Area Radioisótopos y Radiaciones.

(3) Recibida, Abril 20, 1974.

PURIFICACION ANGIOTENSINA I ¹²⁵I
 L-Asp-L-Arg-L-Val-L-Tyr(¹²⁵I)-L-Ile-L-Ileu-L-His-L-Pro-L-Phe-L-His-L-Leu
 PN: 1419 SEPHADEX G-25 (medio)
 RENDIMIENTO: 79 %
 Act. Especifica: 144 mCi/mg

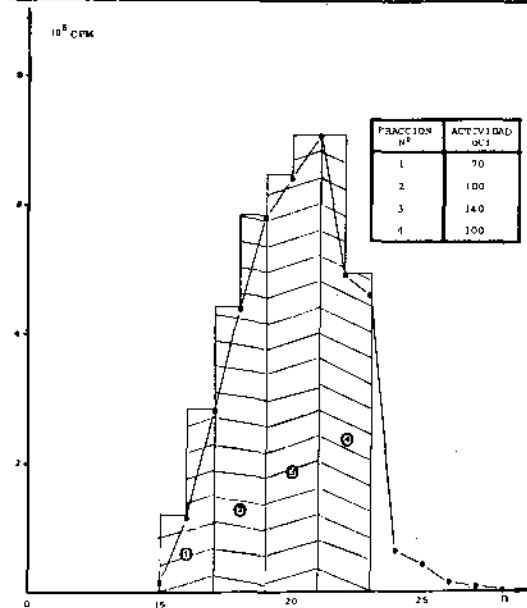


FIGURA 1

- 1) Aproximadamente 1 mCi de ¹²⁵I-Asp sin portador ni reductor (400 mCi/ml).
- 2) 25 µl de una solución reguladora de fosfato 0,5 Molar pH 7,5.
- 3) 25 µl (37 µg) de Cloramina T recientemente preparada, disuelta en solución reguladora de fosfato 0,05 Molar pH 7,4.
- 4) 25 µl (5 µg) Angiotensina I disuelta en ácido acético 0,01 N.
- 5) 50 µl (100 µg) de Metabisulfito de sodio en solución de fosfato 0,05 M pH 7,4 recientemente preparada.
- 6) 1 ml de albúmina humana al 7 % en solución reguladora de fosfato 0,5 M (con agregado de lisozima de huevo 0,25 % como inhibidor proteolítico).

Purificación

A) Intercambiador aniónico.

Se prepara una columna de vidrio silicada de 5 cm de largo por 1 cm de diámetro llenándola con 250 mg de resina aniónica De Acidite FF, previamente saturada con albúmina humana al 1 % y 0,25 % lisozima de huevo, todo en solución reguladora de fosfato 0,5 M.

Se introduce el contenido de la celda de reacción en la columna y se lava con albúmina humana 0,3 %, lisozima de huevo 0,25 % en solución reguladora de veronal 0,02 M. El producto marcado es eluido en aproximadamente 2 ml.

B) Filtración en gel.

A fin de separar la posible diiodoangiotensina formada en la reacción de marcación, caracterizada por una menor inmunoreactividad que la monoiodoangiotensina (12), se ensayó la purificación por filtración en gel.

Para ello la mezcla de reacción se pasó a través de una columna de Sephadex G-25 (medio) de 1 cm de diámetro por 50 cm de largo, previamente saturada con albúmina humana al 0,25 % en solución reguladora de fosfato 0,35 M, pH 7,5, conteniendo lisozima de huevo al 0,25 %, siendo la velocidad de elución de 15 ml/hora. Se recogieron alícuotas de 1 ml; la Angiotensina marcada comenzó a aparecer a partir del eluido 15 al 26 (figura I). Se consideraron cuatro fracciones I; II; III y IV cuyas actividades fueron de 70; 100; 140 y 100 µCi respectivamente.

Cálculo del rendimiento de reacción

Se efectúa por cromatografía electroforética de una alícuota del tubo de reacción y con veronal 0,02 M y Azul de Bromofenol. Se siembra en papel Whatman 3 MM (tirras de 3,5 cm de ancho y 45 cm de largo) se corre a 500 voltios durante 1 hora y media. Se sacan las tirras y se pasan por un radioscanner Packard modelo 7200, se determinan los porcentajes por pesada.

Fraccionamiento y Distribución

La hormona marcada se envía en alícuotas congeladas en envases de poliestireno de 5 ml de capacidad, dentro de las 24 hs., de producción y con las siguientes especificaciones.

Actividad específica: 150-200 mCi/mg.

Volumen: 2 ml.

Daño: 5 %.

Actividad total: 200 µCi.

Radioinmunoensayo para Angiotensina I-ATI

El método de radioinmunoensayo utilizado para medir los niveles plasmáticos de AT I se basa en la capacidad de la AT I humana de competir con la AT I sintética marcada con ¹²⁵I por unirse a un antisuero contra AT I sintético.

Preparación del Antisuero a la AT I

El antisuero se obtuvo inmunizando conejos con AT I. Los animales utilizados fueron conejos machos (raza New Zealand) de 4 a 6 semanas de edad. El antígeno para cada inyección se preparó de la siguiente manera: 1 mg de AT I (Asp¹-isoleu⁵-AT I(a) se mezcló con 0,5 mg de carbón (Norit A (b), 0,1 mg de bacilos tuberculosos muertos (lavados, dializados y liofilizados) (c) y 0,5 mg de Belloid DT (d) Esta mezcla se disolvió en 1 ml de adyuvante de Freund incompleto y 0,5 ml de solución fisiológica. Las inyecciones se realizaron de acuerdo a la técnica descrita por Boyd y Peart (13). La primera inyección se realizó en el tejido esplénico y las inyecciones siguientes se realizaron cada 15 días por vía subcutánea.

El 50 al 75 % de los conejos respondió produciendo anticuerpos a la AT I entre la 6a y 8a semana después de la primera inyección. Los títulos máximos de anticuerpos se encontraron entre la 10a y 18a semana después de la primera inyección. El plasma del animal con mayor título se utilizó para los estudios.

Para obtener una mayor sensibilidad en las determinaciones se estudiaron curvas variando la dilución del antisuero. La Tabla I muestra la relación entre la AT ¹²⁵I ligada al anticuerpo (B) y la AT ¹²⁵I libre (F) obtenida utilizando antisuero en diluciones de 1/1000 a 1/24000 y (A) con concentraciones máximas y mínimas de mg AT I entre 125 y 150 mg. La dilución de 1/16000 del anticuerpo permi-

tió obtener curvas con mayor sensibilidad que las logradas con diluciones mas bajas. Por otra parte, en diluciones mas altas (ej.: 1/24000) la relación de B/F es demasiado baja y no permite realizar determinaciones correctas.

Preparación de Reactivos para el

Radioinmunoensayo

1. Solución madre de carbón-dextrán

0,25 g de dextrán 70 (PM: 70000) (e) se disuelven en 85 ml de solución buffer de barbital. Después se agrega 2,5 g de Norit A y se disuelve esta mezcla en 100 ml de solución reguladora de barbital (solución Nz 7). Esta solución debe agitarse continuamente durante 24 horas a 4°C y se debe guardar refrigerada.

2. Solución de trabajo de carbón-dextrán

Esta solución es la que se va a utilizar en el radioinmunoensayo. Esta solución es una dilución 1:4 de la solución madre de carbón dextrán disuelta en la solución reguladora de barbital (solución N° 7). Se agrega 1 ml a cada tubo.

3. Solución de 8-hidroxiquinolina

Se disuelven 600 mg de sulfato de 8-hidroxiquinolina (f) en 10 ml de agua destilada (solución 0,34 M). Esta solución se debe conservar en la oscuridad.

4. Dimercaprol (2,3 dimercaprol-1-propranal: BAL(g))

Se diluyen 0,8 ml de dimercaprol en 9,2 ml de benzoato de bencilo (solución 0,806 M).

5. Solución reguladora de Tris-Acetato

Se diluyen 6 g de tris base (h) en 500 ml de agua destilada (solución 0.1 M). El pH se ajusta a 7,4 con aproximadamente 2,5 ml de ácido acético glacial.

6. Solución reguladora de tris-acetato con lisozima (i)

Se agrega 1 mg de lisozima por ml de la solución buffer N° 5. Esta solución se utiliza para diluir las muestras de plasma.

7. Solución reguladora de barbital

Se disuelven 3,8 g de cloruro de sodio, 0,7 g de barbital sódico y 0,4 g de acetato de sodio en 450 ml de agua destilada. El pH se ajusta a 7,4 con aproximadamente 25 ml de ácido clorhídrico 0,1 N. Esta solución se debe conservar refrigerada.

Extracción de las muestras de sangre

La sangre se saca en ubos conteniendo 0.3 ml EDTA (Etilendiaminotetraacético). Los tubos se mantienen en hielo hasta el momento de ser centrifugados en frío (4°C). El plasma se separa inmediatamente y se conserva congelado hasta el momento del radioinmunoensayo. Inmediatamente antes de comenzar el radioinmunoensayo, se agrega a cada tubo una de las muestras de plasma, 10 µl de la solución

de 8-hidroxiquinolina (Solución N° 3) y 0,2 ml dimercaprol. El EDTA, dimercaprol y la 8-hidroxiquinolina se utilizan para inhibir las angiotensinasas (14, 15). Para el radioinmunoensayo se utilizan de 0,2 a 0,5 ml de plasma. Cada muestra de plasma se diluye a 3 concentraciones distintas con la solución N86. Las muestras se incuban a 37°C durante 3 horas y después se realiza el radioinmunoensayo.

Resultados obtenidos variando el tiempo de incubación

Se tomó un "pool" de sangre de los sujetos normales (posición de pie, dieta libre). La sangre se sacó en tubos conteniendo EDTA como fue descrito más arriba y plasma se le agregó la solución de 8-hidroxiquinolina y dimercaprol. Los plasmas fueron incubados a 37°C de 0 a 24 horas. La figura 1 muestra los resultados. Al aumentar el tiempo de incubación se produjo un aumento de la generación de AT I (figura 2). Para el radioinmunoensayo, se utilizó un tiempo de incubación de 3 horas.

Preparación de la curva standard (figura 3)

1. — Se numeran los tubos del N° 1 al N° 18 y se mantienen refrigerados en hielo.

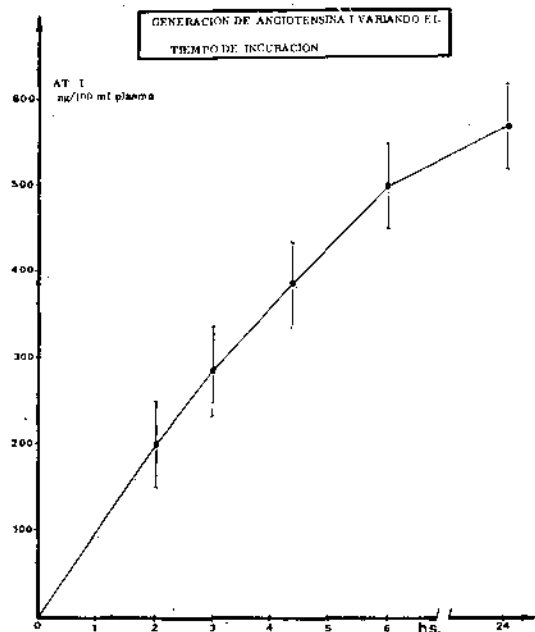


FIGURA 2

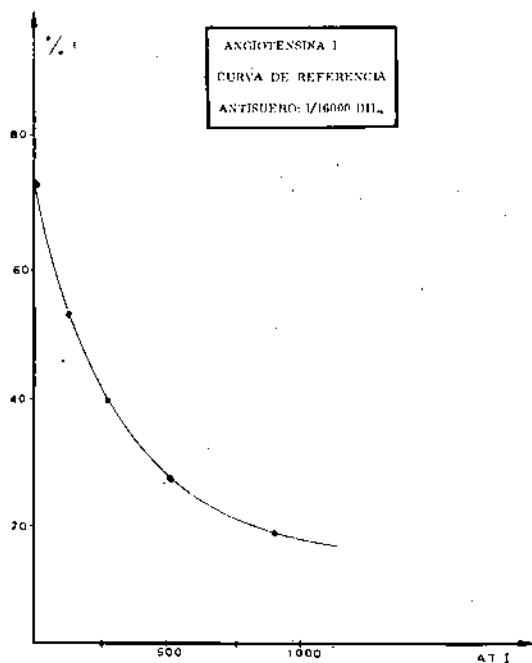


FIGURA 3

2. — En cada tubo se pipetea 0,9 ml de la solución reguladora tris.

3. — Se agrega la AT I standard en distintas concentraciones.

4. — La AT I¹²⁵I se diluye con solución reguladora de tris-acetato de lisozima (solución 6) para obtener alrededor de 10.000 ó 15.000 cpm por 50 μ l de solución. En los tubos numerados del N^o 1 al N^o 16 se agrega 50 μ l de la solución de AT I¹²⁵I. Para certificar el método se agrega 100 μ l de AT I¹²⁵I en el tubo N^o 17 y 150 μ l de AT I¹²⁵I en el tubo N^o 18.

5. — Se agregan 50 μ l del antisuero a AT I en la dilución seleccionada en los tubos numerados del N^o 3 al N^o 18. Los N^o 1 y N^o 2 sirven de control.

6. — Se mezcla cada tubo en el mezclador.

7. — Se incuban los tubos durante 72 horas a 4°C.

8. — Se agrega a cada tubo 1 ml de la solución de trabajo de carbón dextrán (solución N^o 2).

9. — Se centrifuga los tubos a 5.000 rpm, a 4°C durante 20 minutos.

10. — Se decanta el sobrenadante en tubos numerados.

11. — Se cuentan los tubos en secuencia (sobrenadante de tubo N^o 1, seguido de

precipitado tubo N^o 1, etc.) en un contador de pozo.

Cálculos

La curva se realiza calculando % B donde B es la AT unida al anticuerpo (sobrenadante).

La concentración de AT I de las muestras se detiene interpolando en la curva standard y los resultados se expresan en mg de AT 1/100 ml de plasma.

Resultados obtenidos con separación con Sephadex G 25 de las distintas fracciones de la AT I

El control de inmunoreactividad con las fracciones I, II, III, IV obtenidas por Sephadex se llevó a cabo mediante incubación de las mismas interpoladas en microcurvas standard. Como muestra la Figura 4 la relación B/F no varió significativamente cuando se trabaja entre 0 y 750 ng de AT I.

Reproducibilidad

Se agregaron 500 a 1000 ng de AT I a muestras de 10 ml de pool de plasma. La recuperación varió entre 85 a 90 % de la AT I agregada al pool de plasma.

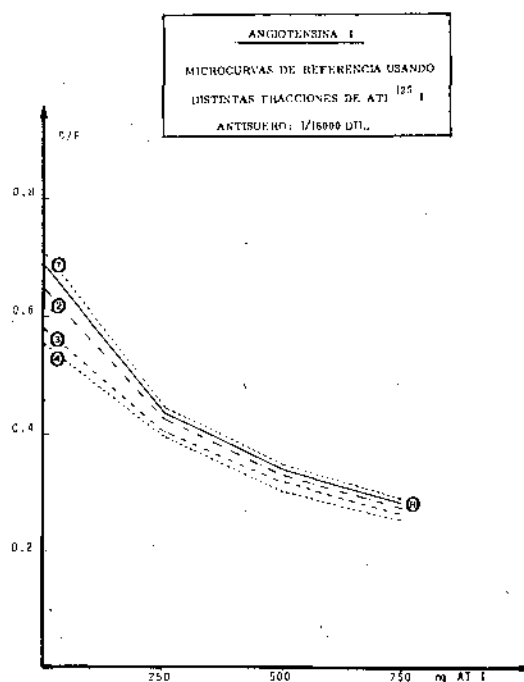


FIGURA 4

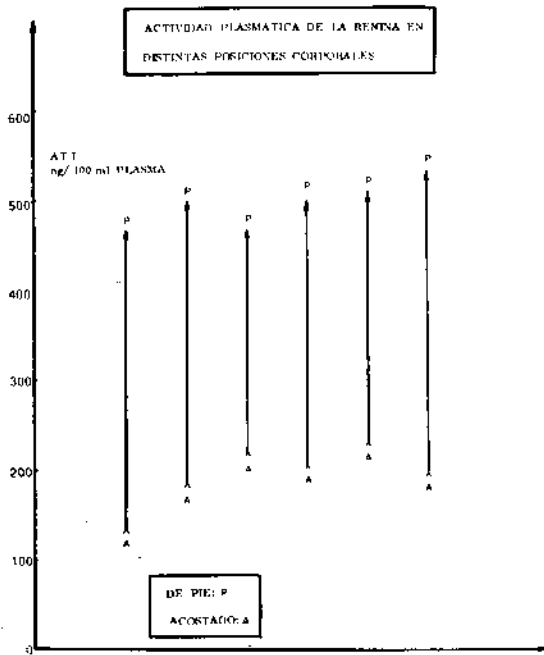


FIGURA 5

Estudios clínicos

La renina es una sustancia proteica de origen renal. Se considera a la renina como la hormona renal, debido a que se la encuentra en la sangre circulante y que su concentración se modifica en diversas situaciones fisiológicas y patológicas (18). La renina es una hormona que posee algunas características particulares. A diferencia de otras hormonas, no ejerce su acción directamente sobre las células reactivas sino que lo hace a través de su acción enzimática (18).

La renina es en realidad una enzima que actúa sobre un sustrato plasmático (α -2 globulina), el hipertensinógeno, genera un decapeptido, que es biológicamente inactivo, la angiotensina I (AT I), que por la acción de otra enzima, la enzima de conversión, forma la angiotensina II, un octapeptido que tiene actividad biológica. La AT II se destruye rápidamente por acción de las angiotensinasas plasmáticas y de los tejidos.

La actividad plasmática de la renina (APR) se mide por la cantidad de AT I generada por una cantidad de plasma a 37°C en condiciones que impiden su transformación a AT II y la acción de las angiotensinasas (BAL, EDTA y 8-hidroxiquinolina), (18). La renina es parte de un sistema homeostático, el que regula el volumen

del líquido extracelular, a través de la secreción de aldosterona y de la retención de sodio y agua. Por ello, su concentración en el plasma, aun en condiciones fisiológicas, está sujeta a grandes variaciones vinculadas con las necesidades del organismo.

Las condiciones en las cuales se determinan los niveles de la APR deben ser establecidas y determinadas, ya que los factores que modifican la secreción de renina son múltiples: las variaciones de la perfusión arterial renal, las variaciones de la actividad del sistema simpático y el aporte de sodio y potasio a la mácula densa (18, 19).

Se reconoce actualmente que el cambio de posición corporal, de la supina a la posición de pie está asociada a una disminución en la perfusión arterial renal y a un aumento del tono simpático. Estas modificaciones producen un aumento de la APR en los sujetos normales (Figura 5). Aporte de sodio juega también un papel importante en la regulación de los niveles de APR (19). La disminución de la cantidad de sodio en la dieta aumenta los niveles de APR (Figura 6). En forma similar, la administración de un diurético, la furseimida (40 mg, ev; Hoechst Pharmaceutical Co) aumenta rápidamente los niveles de la APR (Figura 7) debido a su acción natriurética y a la disminución del volumen del líquido extracelular.

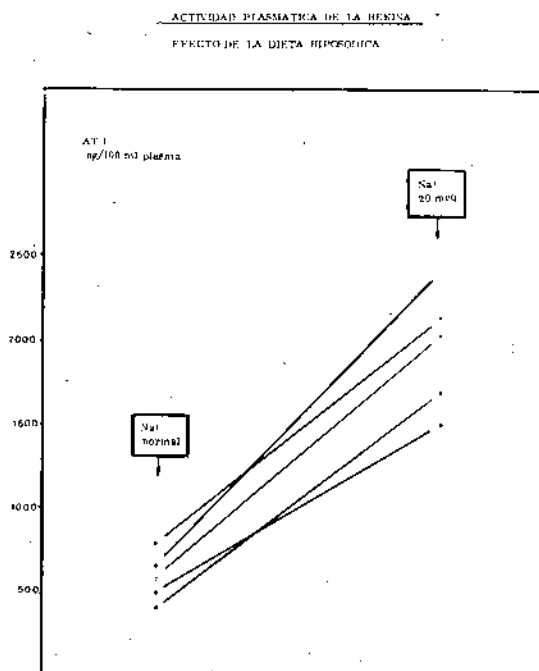


FIGURA 6

Se ha sugerido que en el hipertiroidismo existe una actividad de sistema simpático y se reconoce actualmente que el sistema simpático estimula la APR. La Figura 8 muestra que en el hipertiroidismo los niveles de APR están elevados y que en el hipotiroidismo están más bajos que los observados en los sujetos normales (21). El tratamiento exitoso de ambas situaciones está asociado a niveles normales de APR (21). La Figura 9 muestra los niveles de PBI y de la APR en 3 pacientes con hipertiroidismo. En estos pacientes el tratamiento con ^{131}I produjo un estado transitorio de eutiroidismo con niveles normales de PBI y APR, seguido de hipotiroidismo con niveles bajos de PBI y APR. Cuando el estado de hipotiroidismo se corrigió con terapia sustitutiva los niveles de APR y de PBI se normalizaron.

Se estudiaron además (Figura 10) los niveles de la APR en 4 pacientes con cirrosis hepática con edema, 3 pacientes con hipertensión renovascular, 7 pacientes con acromegalia activa, 5 pacientes con acromegalia inactiva, 3 pacientes con enfermedad de Cushing, 4 pacientes con hipertensión y en 3 pacientes en el tercer trimestre de embarazos normales (Figura 10). Puede verse que en los pacientes con hipertensión renovascular y en la cirrosis hepática con edema (aldosteronismo secundario) y en el embarazo (aldosteronismo secundario fisiológico), la APR esta aumentada mien-

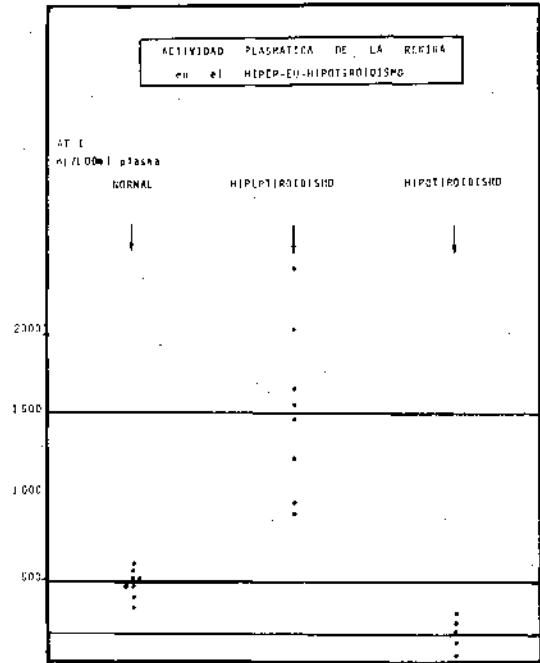


FIGURA 8

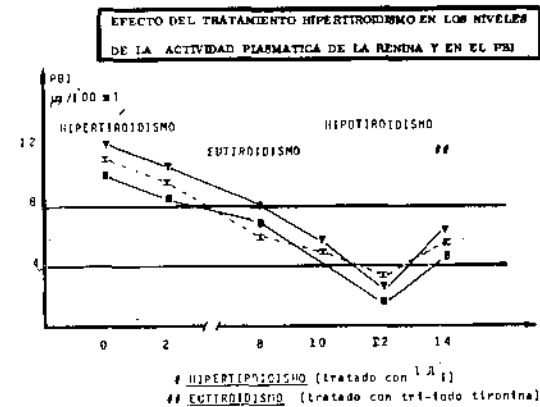


FIGURA 9

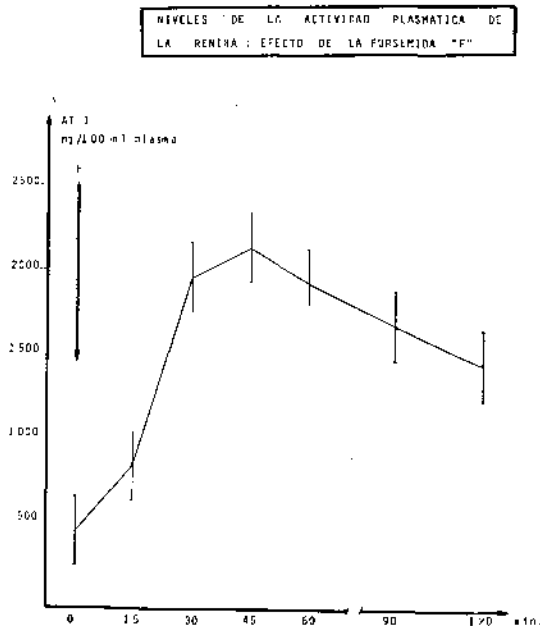


FIGURA 7

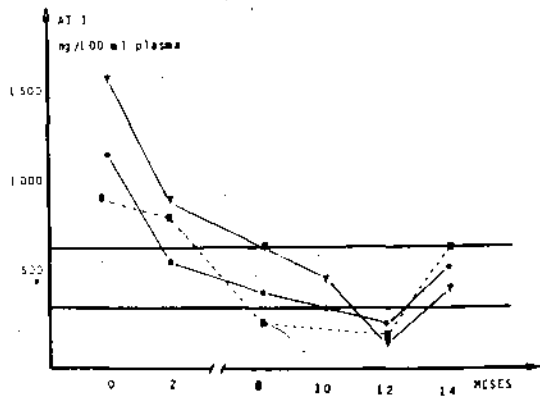
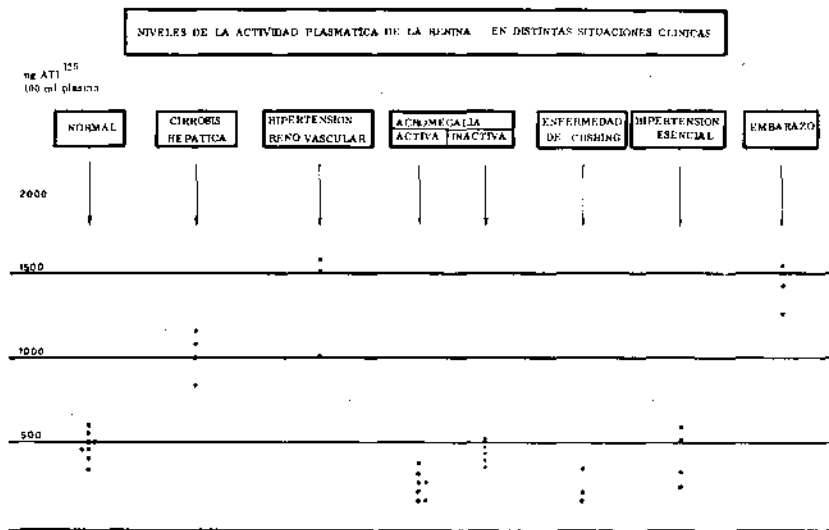


FIGURA 10



ACTIVIDAD PLASMÁTICA DE LA RENINA
efecto del tratamiento en la enfermedad
de Addison.

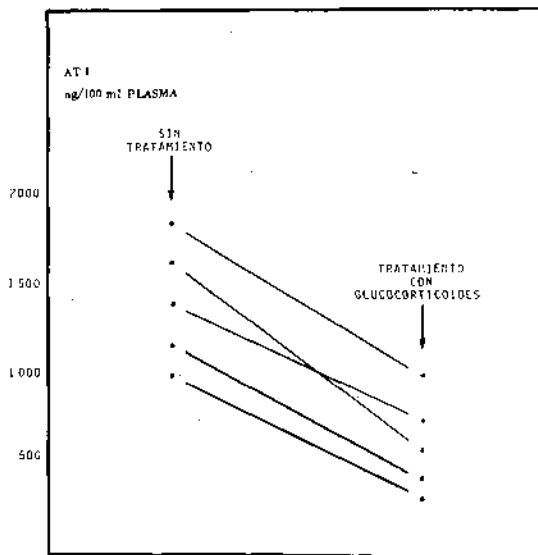


FIGURA 11

tras los niveles de APR observados en la acromegalia activa e inactiva (22) en la enfermedad de Cushing y en la hipertensión esencial son similares los valores de APR observados en los sujetos normales.

La Figura 11 muestra la APR en pacientes con enfermedad de Addison antes y después del tratamiento con glucocorticoides. Puede observarse que los niveles basales de APR en los pacientes con enfermedad de Addison son significativamente más

RELACION ENTRE LA ANGIOTENSINA I (ATI) ¹²⁵ LIGADA AL ANTICUERPO (B) Y LA ATI ¹²⁵ LIBRE (F) VARIANDO LA CONCENTRACION DEL ANTICUERPO

ANTISUERO CONCENTRACION FINAL	B/F
1 : 2000	0.41
1 : 3000	0.40
1 : 6000	0.50
1 : 12000	0.55
1 : 16000	0.78
1 : 24000	0.22

TABLA I

altos que en los sujetos normales ($p < 0,001$) y que el tratamiento sustitutivo con hidrocortisona produjo un descenso marcado de los mismos (23).

Comparación de los resultados del radioinmunoensayo y bioensayo

Se compararon los resultados del radioinmunoensayo con los resultados obtenidos midiendo los niveles de angiotensina II (AT II) por el bioensayo utilizando ratas anestesiadas tratadas con pentolinium (21).

El bioensayo mide la respuesta precisa obtenida por la inyección de las muestras. Las muestras a probar y los standards de AT II (5-valil-angiotensina amida, Ciba) se administraron por vía endovenosa. La respuesta presora se midió para 2 dosis diferentes de cada muestra por duplicado

COMPARACION DE LOS VALORES DE LA ACTIVIDAD DE RENINA MEDIDA POR BIOENSAYO Y RADIOINMUNOENSAYO		
N°	RADIOINMUNOENSAYO ng AT I/ml	BIOENSAYO ng AT I/ml
1	12.0	7.4
2	15.0	11.6
3	12.0	11.4
4	16.0	11.6
5	30.0	22.7
6	22.0	24.4
7	24.0	19.0
8	6.0	6.6
9	21.0	19.0
10	18.0	19.7
11	16.0	15.6
MEDIA ± S.S.	17,8 ± 2,0	15,5 ± 1,8

TABLA II

y cada resultado es el promedio de 4 ensayos. La recuperación de la Angiotensina II agregada a las muestras fue de 90-100 % lo que indica la ausencia de angiotensinasa en los extractos.

La Tabla II muestra los resultados de los niveles de AT I y AT II medidas por el radioinmuno ensayo y bioensayo respectivamente. La actividad de renina medida por radioinmunoensayo como AT I fue $17,8 \pm 2,0$ ng AT I/me y medida por bioensayo $15,5 \pm 1,8$ ng AT II/ml p.N.S.

Esta experiencia demuestra que existe una excelente correlación entre los métodos inmunológicos y biológico y que los resultados pueden ser comparados. Kotchen y col. (25) demostraron que existe una buena correlación entre los métodos de radioinmunoensayo de Haber y col. (17) y el bioensayo de Skinner (26). Otros investigadores como Hass y Goldlatt (27) y Boyd y col. (28) demostraron que el método de bioensayo de valores más altos que el método de radioinmunoensayo, mientras que Secley y col. (29) Cohen y col. (30) y Ménard y Catt (31) demostraron que los valores de actividad de renina medidos por el bioensayo son más bajos que los medidos por radioinmunoensayo a pesar que nuestros resultados son levemente más altos utilizando el radioinmunoensayo que el bioensayo, en nuestras manos los resultados pueden ser comparables.

Conclusiones

Se marcó la Angiotensina I con ^{125}I INA utilizando el método de Hunter y Greenwood (11). Además se pasó la ^{125}I AT I por una columna de filtración en gel. Los resultados obtenidos utilizando distintas frac-

ciones de ^{125}I AT I permiten afirmar que el pasaje de la AT I marcada por una columna de filtración en gel no es necesario ya que los resultados de la curva standard fueron similares a los obtenidos con la resina de intercambio iónico.

Se describió el método de dosaje radioinmunológico y su aplicación en distintas situaciones fisiológicas y patológicas. El método de radioinmunoensayo presenta sensibilidad adecuada para detectar concentraciones bajas de AT I en plasma. Valores similares de AT I en plasma de sujetos normales han sido descriptos por Boyd y col. (16) y por Haber y col. (17).

Resumen

Se describe la preparación de Angiotensina I ^{125}I de actividad específica mci/mg, la preparación del antisuero de Angiotensina I ^{125}I de actividad específica 150-200 mci/mg, la preparación del antisuero de Angiotensina I y su utilización en el dosaje del nivel plasmático de la renina por radioinmunoensayo en distintas situaciones fisiológicas y patológicas.

Summary

The preparation (150-200 mCi/mg) Angiotensin I ^{125}I is described, as well as its use in the measurement of plasma renin levels by radioimmunoassay in a variety of clinical situations.

Bibliografía

1. R. S. YALLOW y S.A. BERSON.: Nature Nature 184: 1648, 1959.
2. D. S. SCHALC y M. L. PARKER: Nature 203: 1141, 1969.
3. J. P. FELBER: Experientia 19: 227, 1963.
4. H. ALBANI, J. C. CRESTO, G. N. de NUÑEZ y A. E. A. MITTA: Presentado al II Congreso de ALASBIMN, México, 1970.
5. J. C. CRESTO, H. ALBANI, J. O. DEGROSSI y A. E. A. MITTA: Premio E. J. Varela de la Asoc. Arg. de Biol. y Med. Nucl., 1972.
6. M. F. de BARMACH, G. N. de NUÑEZ, N. ALTSCHULER y A. E. A. MITTA: Informe N° 346 CNEA, 1973.
7. A. TEMPONE, L. E. QUIHILLALT, L. ARRIGHI y A. E. A. MITTA: Informe N° 317 CNEA, 1972.
8. L. I. DUJOVNE, H. ALBANI, G. N. de NUÑEZ, J. O. DEGROSSI y A. E. A. MITTA: a publicar, 1972.
9. R. O. ARATA, G. N. de NUÑEZ, C. A. MAUTALEN y A. E. A. MITTA: Informe N° 332 CNEA, 1973.
10. O. BRUNO, L. E. QUIHILLALT y A. E. A. MITTA: Presentado al IV Congreso Argentino y Ira. Jornada Regional de ALASBIMN Tucumán, 1973.

11. W. M. HUNTER y F. C. GREENWOOD: *Nature* 194: 495, 1962.
12. C. GANDOLFI, R. MALVANO y U. ROSA: *Biochim. Biophys Acta* 251: 254, 1971.
13. G. W. BOYD y W. S. PEART: *Lancet* 2: 129, 1968.
14. G. W. BOYD, J. LONDON y W. S. LANCET 2: 1002, 1967.
15. J. W. RYAN, J. K. Mc KENZIE, M. R. LEE: *Biochem. G* 108: 870, 1968.
16. G. W. BOYD, A. R. ADAMSON, A. E. FITZ, W. S. PEART, *LANCET* I: 213, 1969.
17. E. HABER, T. KOERNER, L. B. PAGE, B. KLIMAN, A. PURNODE: *J. Chem. End.* 29: 1349, 1969.
18. J. C. FASCIOLO en "La Secreción de Renina" Conferencias E. Braun Menéndez. Buenos Aires, 1965.
19. I. H. PAGE y J. W. Mc CUBBIN en "Renal Hypertension" Year Book Medical Publishers Inc., Chicago 1968.
20. N. WINER, S. D. CHOKSHI, M. S. YOON, A. D. FREEDMAN: *J. Clin. End.* 29: 1168, 1964.
21. J. H. HAUGER-KLEVENE, H. BROWN, J. ZAVALETA: *J. Clin. End.* 34: 625, 1972.
22. J. H. HAUGER-KLEVENE, M. Baratoni de G. MOYANO y G. NABIA: *Clin. Res.* 20: 865, 1972.
23. G. NABIA, J. H. HAUGER-KLEVENE y R. J. SOTO: *Clin. Res.* 20: 893, 1972.
24. E. de VITO, J. C. GASCIOLO. *Acta Physiol. Lat. Amer* 15: 129, 1965.
25. T. A. KOTCHEM, W. FLAMENBAUN, W. CIRKSENA, W. GAMBLE: *J. Clin. End. Metab.* 36: 804, 1973.
26. S. L. SKINNER: *Circ. Res.* 20: 391, 1967.
27. E. HASS, H. GOLDBLATT: *Lancet* 1: 1330, 1972.
28. G. W. BOYD, A. R. ADAMSON, Q. FITZ, W. S. PEART: *Lancet* 1: 213, 1969.
29. J. E. SEALEY, J. BERTEN BARRES, J. H. LAVAGH: *Kidney International* 1: 240, 1972.
30. E. L. COHEN, C. E. GREIM, J. W. CONN, W. M. BLAUGH, L. B. GUYER, D. C. KEM, C. P. LUCAS: *J. Lab. Clin. Med.* 77: 1025, 1971.
31. J. MENARD, J. K. CATT: *End* 90: 422, 1972.

símbolos y abreviaturas recomendadas

<p>Prefijos</p> <p>d (deci) 10^{-1} c (centi) 10^{-2} k (kilo) 10^3 m (mil) 10^{-3} μ (micro) 10^{-6} M (mega) 10^6 n (nano) 10^{-9} p (pico) 10^{-12} G (giga) 10^9 f (femto) 10^{-15} a (atto) 10^{-18} T (tera) 10^{12}</p> <p>Nota: μm (y no μ) = micra, micrometro (= 10^{-6} m)</p> <p>Longitud y superficie</p> <p>m metro a área ha hectárea pulg pulgada</p> <p>Masa y peso</p> <p>g gramo t tonelada (1.000 kg) oz onza lb libra</p> <p>Medidas para líquidos</p> <p>l litro cm^3 centímetro cúbico (y no cc)</p> <p>Tiempo</p> <p>s segundo min minuto h hora d día a año</p> <p>Temperatura</p> <p>$^{\circ}\text{C}$ grado Celsius $^{\circ}\text{K}$ grado Kelvin $^{\circ}\text{F}$ grado Fahrenheit $^{\circ}\text{R}$ grado Rankine</p> <p>Para intervalos o diferencias de temperatura, emplear gradC (= gradK) y gradF (= gradR)</p> <p>Presión</p> <p>lb/pulg² kg/cm^2 cmHg } centímetro de mercurio mmHg } milímetro de Torr } mercurio atm } atmósfera</p>	<p>Electricidad y magnetismo</p> <p>A amperio C coulombio c.a. corriente alterna c.c. corriente continua dB decibelio eV electronvoltio F faradio G gauss H henry Hz ciclos por segundo, hertz J julio mho mho (siemens) MW(e) megavatio (eléctrico) MW(t) megavatio (térmico) N neper Oe oersted ohm, ohm V voltio W vatio Wb weber</p> <p>Varios</p> <p>Å Angström at.% átomos por ciento b barn (= 10^{-24} cm^2) Btu unidad térmica británica cal caloría cd candela Ci curie C.M.A. concentración máxima admisible conc. concentrado cuentas cuentas (por ejemplo, cuentas/min) diám. diámetro des. desintegraciones (por ejemplo, des./min) dina dina \$ dólar, unidad de reactividad (por ejemplo, 4,2 \$) Ec(s). ecuación(es) [por ejemplo, Ec.(4)] erg ergio Fig(s). figura(s) (por ejemplo, Fig. 3) GM Geiger-Müller ° grado (unidad de ángulo) imp. impulsos (por ejemplo, imp./min) i.r. infrarrojo lm lumen</p>	<p>lx lux max. máximo M concentración molar mil 0,001 pulg mill 0,1 centavos de dólar min. mínimo minuto (unidad de ángulo) mol mol mol. molécula, molecular n neutrón N newton N concentración normal Nº número (por ejemplo, Nº 8) p poise pH potencial hidrógeno % por ciento ‰ por mil ppm partes por millón P.T.N. presión y temperatura normales (1 atm, 0°C) röntgen röntgen R rad rem rad rem rem rev/min revoluciones por minuto " segundo (unidad de ángulo) sr estereorradián St stokes T½ período u.v. ultravioleta vol.% volumen por ciento</p> <p>Matemáticas</p> <p>\approx aproximadamente igual a \Rightarrow tensor P → vector × signo de multiplicar</p> <p>Número másico del átomo</p> <p>Se escribirá en la parte superior izquierda del símbolo, por ejemplo ²³⁸U</p> <p>Ejemplos de unidades complejas</p> <p>Coefficientes de conductividad térmica: Btu/cm s gradC, o bien $\text{Btu cm}^{-1} \text{ s}^{-1} \text{ gradC}^{-1}$ (y no $\text{Btu}/\text{cm}/\text{s}/^{\circ}\text{C}$) Flujo neutrónico integrado: $\text{n}/\text{cm}^2 \text{ s}$, o bien $\text{n cm}^{-2} \text{ s}^{-1}$ (y no $\text{n}/\text{cm}^2/\text{s}$)</p>
--	--	--