

COMPARACIÓN DEL EFECTO ANTIDIURÉTICO DEL ACETATO DE DESMOPRESINA Y EL EXTRACTO DE NEUROHIPÓFISIS BOVINA EN EL SAPO (*Bufo marinus*)

Comparison between the Antidiuretic Effect of Desmopressin Acetate and Neurohypophyseal Extract Bovine using the Toad (*Bufo marinus*)

Francisco Perozo-Marín¹, Marcelo Gil-Araujo¹, Egar Sánchez¹, Karla Reyes² y Miguel Morillo²

¹Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad del Zulia, Apartado 15252. Maracaibo 4005-A, Edo. Zulia, Venezuela.

²Asistente de Investigación.

RESUMEN

El presente estudio fue realizado en el laboratorio de Fisiología Animal de la Facultad de Ciencias Veterinarias de la Universidad del Zulia, Maracaibo, estado Zulia, Venezuela. Para comparar el efecto antidiurético del acetato de desmopresina y el extracto de neurohipofisis bovina en sapos. Se utilizaron 24 sapos adultos hidratados con la consecuente inhibición de la secreción endógena de vasopresina, asignados aleatoriamente en tres grupos de 8 con tres tratamientos. Tratamiento A: con cinco dosis, una diaria de acetato de desmopresina. Tratamiento B: con cinco dosis, una diaria de extracto de neurohipofisis bovina, y Tratamiento C: con cinco dosis iguales, una diaria de solución fisiológica. Se aplicó un diseño unifactorial con una covariable, donde la variable respuesta fue ganancia de peso y la covariable peso inicial. Se realizó un estudio de significancia por pares de tratamiento para comparar la ganancia de peso. Se demostró que ambas drogas poseen un efecto antidiurético pues los pesos promedio de los animales tratados fueron significativamente mayores que en los animales testigo, debido a la absorción y reabsorción de líquido causada por la droga. El efecto antidiurético de ambas drogas no difiere significativamente inclusive a las dosis que generaron una respuesta máxima. La oxitocina presente en el extracto de neurohipofisis bovina no interfiere con el efecto antidiurético. Se recomienda para la realización de los trabajos prácticos y en docencia, la utilización del extracto de neurohipofisis bovina, pues se demostró su efectividad y disminuye los costos.

Palabras clave: Efecto antidiurético, acetato de desmopresina, extracto de neurohipofisis, sapo.

ABSTRACT

This study was performed at the animal Physiology Laboratory of the Universidad del Zulia in Veterinary School, Maracaibo, Zulia state, Venezuela, in order to make a comparison between the Desmopressin acetate and neurohypophyseal extract of bovine, with 24 adult toads, placed in water to guaranty over hydration and a physiological inhibition of Endogenous vasopressin release. Eighth toads were aleatory assigned to each treatment as fallow: treatment A with five dose, one per day of Desmopressin acetate, treatment B with five dose, one per day of neurohypophyseal extract of bovine and treatment C with five doses of physiological solution as a control. The investigation describes the antidiuretic effect of both drugs. An unifactorial design with one covariable was applied, using weight gain like response variable and the initial weight like covariable. The significance levels for paired treatments was measured, to compare the weight gain due the liquid absorption because the drug action. The antidiuretic effect of both drugs was demonstrated because the mean weight of the treated animals was significantly higher than those of the control animals. The comparison between the antidiuretic effect of both drugs resulted in no significative differences, inclusive at the highest dose. The oxytocin present in the neurohypophyseal extract of bovine demonstrated no interference with the antidiuretic effect of Vasopressin. The final recommendation is to use neurohypophyseal extract of bovine for teaching because it is less expensive and useful.

Key words: Antidiuretic effect, desmopressin acetate, neurohypophyseal extract, toad.

INTRODUCCIÓN

La presente investigación surge como una necesidad de establecer la comparación entre dos productos con una diferencia de costos muy marcada y que hipotéticamente pueden cumplir con la misma función, permitiendo dilucidar la pertinencia de la utilización del producto de menor costo.

Este trabajo infiere sobre una de las herramientas básicas del riñón: la diuresis y la anti-diuresis, mecanismos a través de los cuales se determina las características de la orina a formarse y la adaptación al momento fisiológico del individuo.

Los riñones en los mamíferos y las aves, por su actividad excretora desempeñan un papel vital en la homeostasis, de hecho controlan la excreción de solutos y agua, manteniendo constante la composición y el volumen de los líquidos corporales produciendo un ultrafiltrado de plasma [4, 12].

En los anfibios, la acción del riñón se acompaña de mecanismos como la reabsorción a nivel de la vejiga urinaria del líquido proveniente de la orina ya formada e inclusive favorece la absorción de líquido del medio ambiente a través de la piel [1, 12].

Cuando factores ambientales y endógenos determinan cambios en el equilibrio hídrico, actúan mecanismos de regulación neuroendocrinos generando respuestas diuréticas o anti-diuréticas que puede llegar hasta la anuria, reabsorción del líquido a través de la piel, vejiga urinaria, etc. [4]

Las secreciones del núcleo supraóptico y paraventricular han permitido la investigación en el campo de la osmorregulación, pues las neuronas responden a los cambios del medio interno excitándose o inhibiéndose [4].

Las neurohormonas producidas en el hipotálamo de los vertebrados, pertenecen a una familia de péptidos neurohipofisarios cuyo predecesor más antiguo es la vasotocina (8 Arg), que se encuentra presente en todos los peces y anfibios [1,18]. Además de este péptido, en los anfibios existen otras sustancias como la vasotocinyl (gly), un péptido que resulta del metabolismo de una provasotocina y la presencia de hidriñas I y II en los anfibios que estimulan la absorción de líquido a través de la piel y la vejiga urinaria [1].

La ADH-arginina tiene una actividad antidiurética y vasopresora marcada [9, 11, 21, 26], cien veces mayor que la oxitocina. La vasopresina actúa sobre los receptores V_1 del sistema nervioso central en la memoria a largo plazo, el hígado induciendo la glucogenólisis y liberando glucosa, y en el músculo liso de los vasos sanguíneos produciendo vasoconstricción; sobre los V_2 en las membranas plasmáticas de las células de los túbulos contorneados distales y colectores para anti-diuresis, y sobre los V_3 en la hipófisis induciendo la liberación de ACTH [12,19]. El estudio farmacológico de los receptores, permite establecer las características funcionales y la afinidad por las sustancias a receptores específicos, demostrando que la vasopresina (arginina) es el mejor ligando para los receptores V_1 , V_2 y V_3 [22].

Para el presente estudio, se utilizó extracto de neurohipófisis bovina contenido de una mezcla de vasopresina y oxitocina (ambas con funciones fisiológicas en control de la osmolaridad). La infusión de una combinación de vasopresina y oxitocina, tiene efectos comparables con la aplicación de vasopresina sola, según lo expresado por Windle y col. [26], lo que justifica la utilización de un producto combinado en un estudio sobre un efecto antidiurético.

La desmopresina (1-desamino-[D arg 8] vasopresina) es un análogo sintético del péptido neurohipofisario vasopresina, con un alto efecto antidiurético e injerencia sobre alteraciones en la coagulación, lo cual ha sido reseñado por varios autores, cada uno en su área específica de estudio [6, 14, 17, 18, 20, 21, 25].

La desmopresina es más potente que la vasopresina al compararse a dosis iguales, pero la vasopresina es mucho más específica a sus receptores y el efecto antidiurético es más prolongado. La utilización de una combinación de ambos permitió obtener los mejores resultados [21].

Para este tipo de estudio se realiza la clonación de estos receptores y se utilizan antagonistas sintéticos que permiten establecer su dinámica molecular [8, 27].

La regulación del equilibrio hídrico en sapos ha sido suficientemente estudiado, demostrándose la acción de hormonas neurohipofisarias en los procesos homeostáticos [1, 16, 23]. Como animal experimental el sapo posee muchas bondades como lo demuestra su utilización en investigaciones recientes relacionadas con la endocrinología básica [7, 12, 19].

La utilización de drogas de origen animal (bovino), se ha probado en sapos con excelente respuesta, corroborando la analogía de las hormonas peptídicas entre las distintas especies como se observa en el trabajo de Chiu y col. [7].

Se estudia el efecto de estos dos fármacos sobre la respuesta antidiurética dentro de los parámetros fisiológicos de individuos experimentales, en este caso sapos, con un grado de hidratación máximo que garantice que la respuesta obtenida no se vea interferida por las concentraciones hormonales endógenas del animal (terapia de sustitución hormonal).

El objetivo de la presente investigación fue: comparar el efecto antidiurético del acetato de desmopresina y el extracto de neurohipófisis bovina en sapos.

MATERIALES Y MÉTODOS

Animales experimentales

Se utilizaron sapos (*Bufo marinus*) adultos, capturados en el municipio Mara del estado Zulia. Una vez recibidos, fueron lavados y colocados en envases con agua limpia, marcados con el grupo del tratamiento y el número del sapo. Los animales permanecieron en este recipiente durante 24 h para que la inmersión garantice un grado máximo de hidratación, un

peso constante y la inhibición de la vasopresina endógena. Los sapos fueron asignados aleatoriamente a cada uno de los grupos de tratamiento: A, B y C (grupo control).

Tratamiento A

Se utilizaron 8 sapos seleccionados aleatoriamente a los cuales se les aplicó, con intervalos de 24 h, una dosis de acetato de desmopresina según se describe en la TABLA I. Se utilizó una inyectadora de insulina para administrar la droga en los sacos linfáticos dorso-laterales.

Para observar la acción de la droga, se determino el incremento de peso, por absorción de fluidos a través de la piel, vejiga urinaria y disminución de la producción de orina por el riñón, causados por la vasopresina.

La técnica consiste en una prueba biológica donde se aplica la terapia de sustitución hormonal y los pasos seguidos fueron los siguientes:

1. Se realizó el pesaje de los sapos para conocer sus pesos iniciales.
2. Se les inyectó la dosis correspondiente al día del experimento y fueron introducidos nuevamente en los recipientes con agua.
3. Se le realizaron pesajes de los animales hasta completar 5 (incluyendo el pesaje inicial) con intervalos de 20 min.
4. Se vaciaron los resultados obtenidos de cada sapo de sus respectivos pesajes en una hoja de registro.

Tratamiento B

Se utilizaron 8 sapos seleccionados aleatoriamente a los cuales se les aplicó, con intervalos de 24 h, una dosis de extracto de neurohipófisis bovina purificada según se describe en la TABLA I. Se utilizó una inyectadora de insulina para administrar la droga en los sacos linfáticos dorso-laterales.

La vida media del acetato de desmopresina, droga del tratamiento A y el extracto de neurohipófisis Bovina droga del tratamiento B, es de aproximadamente 20 min y sus efectos pueden observarse durante 60 min aproximadamente [12, 19],

por lo que un lapso entre tratamientos de 24 h garantiza que no existan efectos sumatorios al medir los resultados.

Grupo de control

Al grupo control, constituido por 8 sapos escogidos aleatoriamente, se les administró una dosis única de 0,1 mL de solución fisiológica, para cada día de experimento, y pesándose los mismos a iguales intervalos que los grupos de tratamiento.

Análisis estadístico

La planificación del experimento y el posterior análisis de los resultados se basó en un diseño unifactorial, con una covariable peso inicial y utilizando como variable de respuesta la ganancia de peso. De esta manera el modelo estadístico fue el siguiente:

$$Y_{ij} = \mu + t_j + \beta (X_{ij} - \bar{X}_i) + \epsilon_{ij}$$

en donde:

Y_{ij} : es la i-ésima observación de la variable respuesta tomada bajo el j-ésimo tratamiento.

μ : es la media global.

t_j : efecto del j-ésimo tratamiento.

β : es el coeficiente de regresión lineal que describe la relación entre Y_{ij} y $X_{ij,0}$.

X_{ij} : valor de la covariable correspondiente a Y_{ij} .

ϵ_{ij} : es el error aleatorio.

Los resultados obtenidos fueron analizados utilizando el paquete estadístico SAS y las medias de los tratamientos fueron comparadas por pares. Se analizaron los niveles de significación para los cuales cada par de medias es diferente. El nivel de significación fue del 5%.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La ganancia promedio de peso por tratamiento, se muestra en la TABLA I, donde se evidencia la diferencia de

TABLA I
DOSIS CORRESPONIENTE A CADA UNO DE LOS TRATAMIENTOS

Día	Tratamiento A Acetato de Desmopresina Dosis (mg)	Tratamiento B Extracto de Neurohipófisis Bovina Dosis [mL (mg)]	Control Solución Fisiológica Dosis (mL)
1	0,005	0,1 (0,5)	0,1
2	0,01	0,3 (1,5)	0,1
3	0,02	0,5 (2,5)	0,1
4	0,03	0,8 (4,0)	0,1
5	0,1	1,0 (5,0)	0,1

peso pre y post tratamiento, siendo este peso la media de cuatro pesajes sucesivos a intervalos de 20 min que siguieron a cada dosis.

El diseño experimental incluyó tres grupos de tratamientos que se identifican como tratamiento A (acetato de desmopresina), tratamiento B (extracto de neurohipófisis Bovina) y tratamiento C (solución fisiológica) como control, TABLA I.

Los resultados obtenidos para el tratamiento A, indican el efecto antidiurético del acetato de desmopresina, que coincide con lo referido por varios autores [3, 6, 21, 25], pues en todas las dosis aplicadas existe una diferencia positiva entre el peso inicial y el peso promedio posterior al tratamiento, lo que evidencia en el caso de los sapos, la activación de mecanismos compensatorios para la retención e ingreso de líquidos como respuesta a la droga (equilibrio hídrico), esto concuerda con lo expresado por Acher y col. [1], y Uchiyama y col. [23].

En la FIG. 1, se muestra la diferencia marcada existente entre el tratamiento A y el control, lo que corrobora la eficiencia antidiurética del fármaco en sapos.

Para el tratamiento B, los resultados permiten demostrar dos premisas básicas: el efecto antidiurético del producto biológico que contiene vasopresina en solución junto con la oxitocina, según lo expresado por García [12] y Norman y col. [19], y la compatibilidad fisiológica entre las hormonas de las distintas especies, lo que concuerda con lo expresado por Chiu y col. [7].

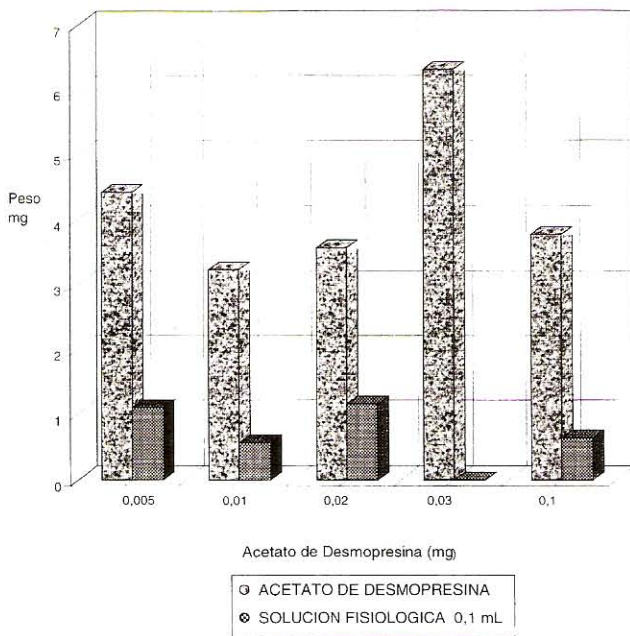


FIGURA 1. EL EFECTO ANTIDIURÉTICO DEL ACETATO DE DESMOPRESINA EN SAPOS. MUESTRA LA DIFERENCIA MARCADA EXISTENTE ENTRE EL TRATAMIENTO CON ACETATO DE DESMOPRESINA Y EL CONTROL (SOLUCIÓN FISIOLÓGICA).

En la FIG. 2, se muestra la diferencia entre el peso que ganan los sapos durante los distintos días de tratamiento y el comportamiento del grupo control el cual actuó como testigo clásico, pues no se observaron diferencias reales entre el peso inicial y el promedio de los pesajes posteriores al tratamiento del control, pero sí entre el tratamiento y el testigo.

Se realizó el cálculo de las medias de las diferencias de ganancia de peso para cada tratamiento y cada dosis individualmente, con esto se persigue establecer el efecto promedio de cada una de las dosis y cuantificar la ganancia puntual que genera la aplicación de los tratamientos. Estos resultados se muestran en la TABLA II.

Con la finalidad de realizar una comparación válida entre los tratamientos desde el punto de vista estadístico, se realizó un análisis de covarianza, utilizando como covariable el peso inicial antes de la aplicación de los tratamientos y se determinó el nivel de significación por pares de tratamientos, lo que permite medir la significancia de las diferencias entre los tratamientos probados, información que se sintetiza en la TABLA III.

En conjunto el modelo estadístico aplicado se ajustó bien con una alta significancia y niveles de ($Pr < 0,0001$), lo que indica que explica muy bien el comportamiento de las variables.

En la TABLA III, se muestra las asociaciones entre los tratamientos donde exista una $Pr < 0,05$ son significativamente

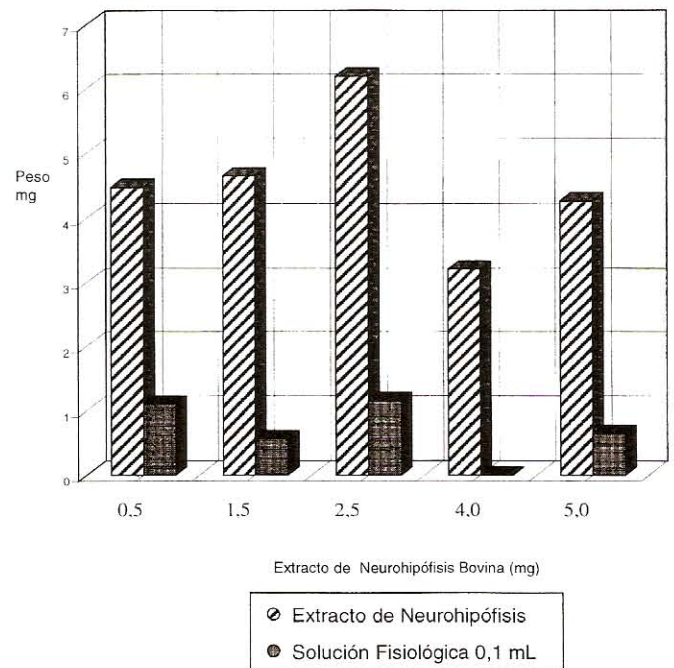


FIGURA 2. EL EFECTO ANTIDIURÉTICO DEL EXTRACTO DE NEUROHIPOFISIS BOVINA EN SAPOS. MUESTRA LA DIFERENCIA MARCADA EXISTENTE ENTRE EL TRATAMIENTO CON EXTRACTO DE NEUROHIPOFISIS BOVINA Y EL CONTROL (SOLUCIÓN FISIOLÓGICA).

TABLA II
MEDIAS DE LAS DIFERENCIA DE PESO POR TRATAMIENTO

Dosis	Tratamiento A Acetato de Desmopresina		Tratamiento B Extracto de Neurohipófisis Bovina		Tratamiento C Solución Fisiológica	
	Media (g)	Desv. Est. (g)	Media (g)	Desv. Est. (g)	Media (g)	Desv. Est. (g)
1	4,41	3,48	4,48	2,26	1,09	1,09
2	3,23	2,03	4,65	3,04	0,56	2,38
3	3,57	2,09	6,19	3,16	1,15	3,21
4	6,30	3,29	3,21	2,43	0	1,38
5	3,78	2,78	4,27	2,22	0,64	1,01

TABLA III
NIVELES DE SIGNIFICANCIA POR PARES DE TRATAMIENTO

Dosis	A - B	A - C	B - C
1	0,7597	0,0700	0,0096
2	0,6572	0,0321	0,0024
3	0,6834	0,0479	0,0403
4	0,0109	0,0001	0,0127
5	0,6399	0,0357	0,0027

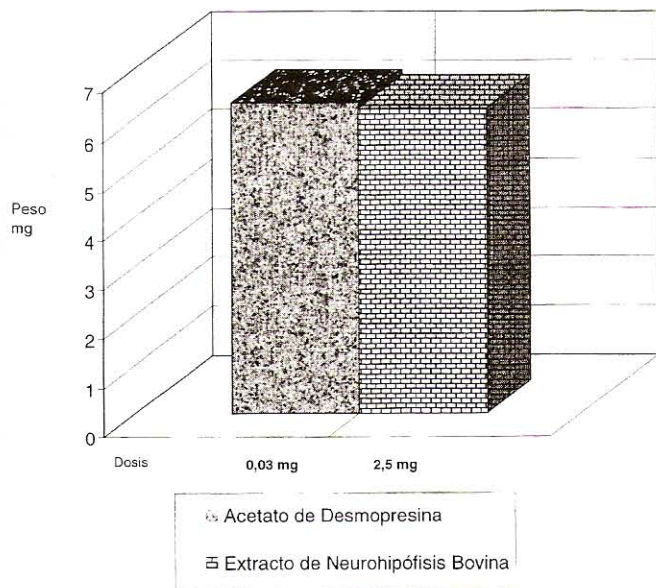


FIGURA 3. MUESTRA LA COMPARACIÓN DE LAS DOS DOSIS QUE DETERMINARON LA MAYOR GANANCIA DE PESO EN SAPOS DE 100 g PROMEDIO Y DEMUESTRA QUE NO EXISTE DIFERENCIA, EL ANÁLISIS DE COVARIANZA DA COMO RESULTADO UNA SIGNIFICANCIA DE 0,1419 PARA LAS DOSIS DE 0,03 mg DE ACETATO DE DESMOPRESINA Y 2,5 mg DE EXTRACTO DE NEUROHIPÓFISIS BOVINA.

diferentes, donde en conjunto se observa como tendencia que entre el tratamiento A y el B solo a la cuarta dosis pueden considerarse significativamente diferentes. Por el contrario tanto A como B difieren significativamente del control, excepto la dosis 1 para el tratamiento A.

Al analizar esta tendencia se obtiene uno de los más importantes hallazgos de la investigación, como lo es la premisa de que ambas drogas son anti-diuréticas y no existe diferencia significativa entre ellas, es decir, ambas producen un efecto anti-diurético equivalente en sapos a las dosis probadas en este experimento.

Se determinó que el punto máximo de inflexión para la curva dosis respuesta fue alcanzado con una dosis de 0,03 mg para el acetato de desmopresina y de 0,5 ml (2,5 mg) para el Extracto de Neurohipófisis Bovina. En la FIG. 3 se establece la comparación de las dos dosis que determinaron la mayor ganancia de peso y demuestra que no existe diferencia, pues la significancia para el análisis de covarianza entre estas dosis fue de 0,1419.

El acetato de desmopresina, es usado como un agente terapéutico en afecciones del equilibrio hídrico en humanos y animales, como lo es la *Diabetes insipidus* según lo reseñan varios autores [3, 6, 13, 14, 20], aquí se ha comprobado que puede realizar un efecto anti-diurético en sapos al igual que en otras especies.

El extracto de neurohipófisis bovina utilizada, demostró su efecto anti-diurético, aún cuando es una combinación de oxitocina y vasopresina, la oxitocina presente según los resultados obtenidos y en concordancia con lo planteado por varios autores [4, 10, 26], evidentemente no altera la capacidad anti-diurética de la ADH, aun cuando la oxitocina por sí sola posee efectos natriuréticos y estimula la secreción del factor natriurético atrial [2, 10, 24], el cual se relaciona con lo expuesto en la literatura sobre tóxico [2, 5, 10, 15].

CONCLUSIONES

El acetato de desmopresina y el extracto de neurohipófisis bovina aplicados en sapos, producen una respuesta anti-diurética, que se evidencia en la diferencia entre el peso inicial

y el peso posterior al tratamiento, debido a la absorción y reabsorción de líquido. La respuesta a ambos tratamientos no difiere estadísticamente. Se recomienda para la realización de los trabajos prácticos y en la docencia, la utilización del extracto de neurohipófisis bovina, pues se demostró su efectividad y disminuye los costos. Los sapos tratados con el acetato de desmopresina con un peso promedio de 100 g alcanzaron la mayor ganancia de peso a la dosis de 0,03 mg. Los sapos tratados con extracto de neurohipófisis bovina con un peso promedio de 100 g alcanzaron la mayor ganancia de peso a la dosis de 0,5 ml (2,5 mg). La oxitocina en el extracto de neurohipófisis bovina no interfiere con la respuesta antidiurética de la vasopresina.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- [1] ACHER, R.; CHAUVENET, J.; ROVILLE, Y. Adaptive evolution of water homeostatic regulation in amphibians: vasotossin and hydrins. **Biol. Cell.** 89 (5-6): 283-291.1997.
- [2] ANTUNES, R.J.; FAVARETTO, A.I.; GUTKOWSKA, J.; Mc. CANN. The neuroendocrine control of atrial natriuretic peptide release. **Mol. Psychiatry.** 2 (5): 359-367. 1997.
- [3] ASPLUND, R.; AVERG, H. Desmopressin in elderly subjects with increased Nocturnal diuresis. **J. Urol. Nephrol.** 27 (1): 77-82. 1993.
- [4] BOURQUE, C.; OLIET, S.; RICARD, D. Osmoreceptors, osmoreception and osmoregulation. **Front Neuroendocrinology.** 15 (3): 231-274. 1994
- [5] BURGESS, W.J.; BALMENT, R.J. Plasma atrial natriuretic peptide in vasopresine deficiency. **J. Endocrinology.** 135 (3): 431-438.1992.
- [6] CALLREUS, T.; OGLOUND P. Pharmacokinetics and antidiuretic effect of intravenous administration of desmopressin in orally overhydrated male volunteers. **Pharmacol. and Toxicol.** 83 (6): 259-262.1998.
- [7] CHIU, K. W.; LEE, Y. Cardiac activity of some peptide hormones in the frog, *Rana tigrina*. **Comp. Bioch. Physiol.** 103 (3): 483-487.1992.
- [8] CZAPLEWSKI, C.; PASENKIEWIEZ, M.; CIARKOWSKI, J. Molecular dynamics of a vasopressin V₂ receptor in a fospholipid bilayer membrane. **J. Recept Signal Transd.** 19 (1-4): 355-367.1997.
- [9] FORSLING, M.; JUDAH, J.; WINDLE, R. The effects of vasopressin and oxitocin on glomerular filtration rate in the conscious rat: contribution to the natriuretic response. **J. Endocrinology.** 141 (1): 59-67.1994.
- [10] FAVARETTO, AL.; BALLEJO, GO.; ALBUQUERQUE, WI.; Mc CANN, SM. Oxitocyn releases atrial natriuretic peptide from rat atria in vitro that exerts the negative inotropic and chonotropic action. **Peptides.** 18 (9): 1377-1381.1997.
- [11] FRANCHINI, K.; MALTSON, D.; COWLEY, A. Vasopressin modulation of medullaty blood flow and pressure natriuresis-diuresis in the descebrated rat. **Am. J. Physiol.** 272 (5): 1472-1479.1997.
- [12] GARCÍA, A.; MONTIJANO, F. **Fisiología Veterinaria.** Mc Graw hill. 435-486.1996.
- [13] GINGER, U.; DODDS. Effects of desmopressin in normal dogs and dogs with willebrand's descease. **Vet. Cli. Path.** 18 (2): 39-42.1989.
- [14] HARB, M.; NELSON, R.; FELDMAN, E.; SCOTT, J. Central diabetes insipidus in dogs 20 cases (1986-1995). **JAVMA.** 209. (11): 1884-1888. 1996.
- [15] KALLARAS, C.; ANGELOPOULOS, N.; APOSTOLAKIS, M.; BOUNTZIOUKAS, S. Effects of intracerebroventricular administration of atrial natriuretic peptide on blood pressure, heart rate and plasma ADH in normal and dehydrated rabbits. **J. Endocrinology.** 21 (4): 200-210.1998.
- [16] MAHLMANN, S.; MEYERHOL, W.; HAUSMANN, H. Structure funtion and phylogeny of (ARG-8) vasotossin receptors from teleost fish and toad. **Proc. Nat. Aca. Sci.** 91 (4): 1342-1345.1994.
- [17] MANNUCCI, PM.; VICENTE, V.; ALBERCA, I.; SACCHI, E.; LONGO, G. Intravenous and subcutaneous administration of desmopressin (DDAVP) to hemophiliacs: pharmacokinetics and factor VIII responses. **J. Endocrinology.** 58 (4): 1037-1039.1997.
- [18] MISHKE, R.; RIVERA, P.; DENIZ, A. Hemophylia in a dog, symptoms, blood coagulation analysis and therapy. **J. Vet. Med.** 109 (8): 279-28.1996.
- [19] Norman, A.; Litwack, G. **Hormones.** Pg. 109-131. Second edition. Academic Press. 1997.
- [20] PREDEL, HG. KUKLINSKI, KRAMER, HJ. Intranasal aplicacion of atrial natriuretic peptide and 1-deamino-D-argenine vasopressin in healthy volunteers, neurodynamic, hormonal and renal excretory effects. **AM. J. Hipertens.** 5 (9): 657-660. 1992.
- [21] SKOPKOVA, J.; HRBAS, R.; BARRTH, T. Comparison of diuretic and antriuretic effects of (lysine) vaso-pressin and (8-lysine) and (8-D-argenine) deaminovasopressin in conscious rats. **Endocrinology.** 15 (2): 129-138.1981.
- [22] THIBONNIER, M.; CRONARTY, D.; PRESTON, L.; WILKINS, P. Molecular pharmacology of human vasopressin receptors. **Experimental Medical Biology.** 449:251-276. 1998.

- [23] UCHIYAMA, M.; TAKEUCHI, T.; MATSUDA, K. Effect of homologous natriuretic peptides in isolated skin of the bulldog, *rana costebiana*. **Comp. Bioch. Physiol.** 120 (1): 37-42. 1998.
- [24] VERBALIS, J.G.; MAGNIONE, M.; STRICKER, E. Oxitocin produces natriuretic in rats at physiological plasma concentrations. **Endocrinology.** 128 (3): 1317-1322. 1991.
- [25] WALSE, B.; KIHLEBERG, J.; DRAGENBERG, T. Conformation of desmopressin, an analogue of the peptide hormone vasopressin, in aqueous solution as determined by NMR spectroscopy. **Eur. J. Biochem.** 252 (3): 428-440.
- [26] WINDLE, R.; JUDAH, J.; FORLING, M. Do vasopressin and oxitocin have synergistic renal effects in the conscious rats?. **J. Endocrinology.** 144 (3): 441-448. 1995.
- [27] YOSHITOMI, K.; NAURESE, M.; HANOAKA. Functional characterization of vasopressin V₁ and V₂ receptors in the rabbit renal cortical collecting duct. **Kidney Int. Suppl.** 55: 177-182. 1996.