

Spontaneously Hypertensive Rat에 있어서 Atrial Natriuretic Peptide의 신장기능과 몇가지 호르몬 분비에 미치는 영향

전북대학교 의과대학 생리학교실
원광대학교 의과대학 소아과학교실*

김산호* · 김선희 · 설경환 · 조경우

(1988년 2월 21일 접수)

= Abstracts =

Effects of Atrial Natriuretic Peptide on Renal and Endocrine Functions in Spontaneously Hypertensive Rats

San Ho Kim*, Suhn Hee Kim, Kyung Hwan Seul and Kyung Woo Cho

Department of Physiology, Jeonbuk National University Medical School, Jeonju 560-180, Korea

*Department of Pediatrics, Wonkwang University Medical School, Iri 570-749

The present study was undertaken to clarify the involvement of atrial natriuretic peptide in the development of hypertension in spontaneously hypertensive rats. Plasma concentration of immunoreactive atrial natriuretic peptide was higher in spontaneously hypertensive rats than in normotensive Sprague-Dawley and Wistar rats. Plasma renin concentration was lower in SHR than in normotensive rats, as observed in earlier experiments. Hydration-induced increase in urine flow and urinary excretions of sodium and potassium were smaller in SHR than in normotensive control rats. Intra-arterial infusion of atrial natriuretic peptide resulted in increases in urine flow, urinary excretions of sodium and potassium in both hypertensive and normotensive rats. Renal response to atrial natriuretic peptide was markedly suppressed in SHR. Plasma renin and aldosterone concentration were suppressed by atrial natriuretic peptide in both SHR and normotensive rats. The responses were not significantly different in both groups.

These results suggest that the renal responsiveness to atrial natriuretic peptide may be suppressed in SHR by some mechanisms still remaining obscure.

Key Words: SHR, Atrial natriuretic peptide, Renin, Aldosterone, Kidney

서 론

1956년 Kisch(1956)는 심장의 심방세포내에는 심실세포에서는 볼 수 없는 독특한 과립이 존재함을 발견하였다. Jamieson 등(1964)은 심방세포내에 존재하는 이러한 특수한 분비성과립이 여러 종류의 포유동물에서 널리 분포하여 있음을 확인하였으며, 심방

세포는 근수축이라는 특성의외에도 세포내에서 어떠한 물질을 합성저장하여 세포밖으로 분비할 수 있는 특성도 가질 것이라고 추정하였다. Marie 등(1976)은 수분 또는 전해질환경의 변화에 의하여 백서 심방세포내의 과립이 변동됨을 발견하여, 심방세포내의 특수 과립은 수분 및 전해질조절과 관련이 있을 것이라고 주장하였다. 심장의 체내 수분대사와의 관련성은 이미 암시되어 있던 바, Henry 등(1956)은 심방

의 확장에 의하여 노량이 증가됨을 관찰하였으며, Gauer 등(1961)은 이러한 세포외액조절기전은 심장 내에 존재하는 어떤 종류의 수용체를 경유하여 나타날 것이라 주장하였다.

De Bold 등(1981)은 백서 심방 추출액을 마취백서 정맥내에 투여하여 신속하고 강력한 노량 및 노중 sodium 배설량의 증가를 발견하였으며, 이러한 효과는 사구체 여과율의 변화없이 나타남을 관찰하였다. 이때 심방추출액은 하등의 효과를 나타내지 않아 심방에 국한하여 존재하는 특수한 과립에 의하여 나타나는 효과일 것이라 주장하였다. 심방추출액 투여에 의한 30~40배에 이르는 노중 Na 배설량 증가 효과는 지금까지 알려진 어떠한 내재성인 "natriuretic factor" 보다도 강력한 것임이 알려졌다. 심방추출액의 노량 및 노중 Na 배설량 증가효과가 심방세포내 특수한 과립에 의하여 나타남은 Garcia 등(1982)의 보고에 의해서 밝혀졌다. 백서 심방에서 발견된, 이노 및 Na 배설인자는 사람과 소, 돼지, 개, 생쥐 등 포유동물 뿐 아니라, 개구리의 심방 및 심실, 닭의 심실(De Bold & Salerno, 1983), 자라의 심방 및 심실(Cho et al., in press) 등에도 존재함이 밝혀졌다.

이러한 물질은 여러 연구자들에 의하여 이노 및 Na 배설효과와 혈관근이완작용, 또한 생화학적인 방법등을 이용하여 정제되어 몇가지 상이한 종류의 심방 Na 배설인자(atrial natriuretic peptide, ANP)가 보고되었고, 곧이어 합성되기에 이르렀다(Cantin & Genest, 1985; Maack et al., 1985; Palluk et al., 1985).

그후 radioimmunoassay 방법의 개발로 ANP의 미량 정량이 가능하게 되어 ANP 및 그 수용체는 심방은 물론, 신장, 뇌, 부신피질 및 수질, 간장, 폐, 장, 눈 등 체내 여러곳에 존재함이 밝혀졌다(Cantin & Genest, 1985).

그러나, ANP의 신장작용의 기전에 관하여서는 상이한 보고가 있어 아직 분명히 확립되어 있지 않다. 즉, 심방추출액 또는 합성 ANP의 투여에 의하여 나타나는 노량 및 Na 배설증가효과는 가장 중요한 작용의 하나이지만, 이때 사구체여과율은 백서, 개, 토끼에서는 마취유무에 상관없이 현저하게 증가하였으나(Maack et al., 1985; Palluk et al., 1985; Baines et

al., 1983; Keeler & Azzarolo, 1983; Burnett et al., 1984; Maack et al., 1984), 이에 반하여 Seymour 등(1985)은 마취한 개에서 ANP의 직접 신동맥내 투여로 노량 및 Na 배설증가효과는 관찰할 수 있으나 사구체여과율의 증가는 볼 수 없다고 보고함으로써, 혈류역동학적인 변화없이도 이노효과가 일어날 수 있음을 암시하였다. Lee 및 Cho(1986)는 무마취 상태에서 소량의 ANP를 신장내로 직접 투여하면 사구체여과율과 신혈류의 증가 및 유리수분 배설의 증가와 아울러 신장으로 부티의 renin 분비의 억제를 일으킴을 보고하여, ANP의 신장내 작용기전이 간단하지 않음을 암시하였다.

한편 renin-angiotensin계의 변조로써 고혈압의 병태생리를 설명하는데 있어 많은 문제점이 노출되어 있으므로 ANP가 체액량, 전해질 및 혈압의 조절에 어떠한 역할을 하고 있는가 하는 점이 흥미를 끌게 되었다. 본태성고혈압 환자에서 혈장내 ANP량이 증가하여 있음이 발견되었으며(Sugawara et al., 1985; Sagnella et al., 1986), 본태성고혈압의 실험모형인 spontaneously hypertensive rat (SHR)에서, ANP에 대한 혈압하강 반응 및 노량, 전해질배설량의 증가 반응이 정상혈압 백서에 비하여 현저히 강화되어 있음이 보고되었다(Kihara et al., 1985; Richards et al., 1985; Pang et al., 1985; Gellai et al., 1986). 반면에 신장의 전해질배설반응이 오히려 현저히 감약되어 있음도 보고되어(Sonnenberg et al., 1983; Tang et al., 1986), 고혈압의 발생 또는 유지의 원인으로 ANP 호르몬계의 변조가 예상은 되나, 아직 확실한 설명은 할 수는 없는 것 같다.

따라서 본 연구에서 SHR의 혈장내 ANP에 의한 신장기능변화 및 체액량, 전해질 및 혈압조절에 관련된 몇가지 hormone의 변동을 관찰함으로써 고혈압의 발생 및 유지에 있어서의 ANP 역할의 가능성을 구명하고자 하였다.

실 험 방 법

1. 실험동물

실험동물은 inbreeding한 체중 150~200 g 내외의 정상혈압 백서인 Sprague-Dawley rat, Wistar rat와 자연발생적 고혈압 백서인 spontaneously hyperten-

sive rat (SHR)로 물과 사료를 충분히 주어 자연채광 상태에서 사육하였다.

2. 신장기능에 미치는 ANP 효과를 보기위한 실험

Nembutal 30 mg/kg을 복강내 투여하여 마취한 후 양측 대퇴동맥 및 일측 대퇴정맥에 400 IU/ml의 heparin이 채워진 polyethylene관을 삽입하였다. 집뇨는 백서의 하복부에 약간의 중앙절개를 하여 방광을 노출시킨 후 cannulae를 삽입하고 이를 고정시킨 후 배를 아래로 향하게 하여 restraint cage에 넣었다.

백서가 마취에서 완전히 깨어난후 (평균 2시간 30분) infusion pump를 이용하여 1.2 ml/hr의 속도로 대퇴정맥내로 hypotonic solution을 주입하였으며, 그 조성은 glucose 3%, NaCl 0.3% 그리고 creatinine 0.3%였다. Hypotonic solution 주입 1시간 후부터 20분간격으로 2~3회 집뇨하고 atriopeptin III (rat atrial natriuretic peptide, 5-28)를 0.1 ug/kg/min의 속도로 일측 대퇴동맥을 통하여 신동맥 상방에서 10분, 또는 40분간 주입하면서 20분 간격으로 계속하여 5회 집뇨하였다. 혈압의 측정은 반대측 대퇴동맥 PE 관에 연결된 pressure transducer를 통해 physiograph에 기록하였다. 혈중 renin 활성도의 변동을 보기위한 채혈은 매 집뇨기의 중간에 pressure transducer와 대퇴동맥사이에서 위치한 three way stopcock를 통해 heparinized capillary tube에 약 70 ul씩 하였으며, 혈중 aldosterone 농도의 변동을 보기위한 채혈은 약물주입 20분전과 약물주입 10분, 30분 그리고 100분후에 150 ul씩 하였다. 채취한 혈액은 capillary centrifuge로 4°C에서 5분간 원침시킨 후 혈장을 분리 냉동보관하였으며 일주일 이내에 측정하였다.

3. 백서 strain간의 hormone 농도의 차이를 보기위한 실험

정상혈압백서인 Sprague-Dawley, Wistar rat와 고혈압백서 spontaneously hypertensive rat의 혈중 ANP의 농도 및 renin 활성도를 비교하기 위해, 안정상태의 백서를 guillotine으로 단두하였다. 혈중 renin 활성도 측정을 위해서는 EDTA 1 mg/ml가 들어있는 차가운 용기에 500 ul의 혈액을 채취하였으

며, 혈중 ANP 농도를 측정하기 위한 채혈은 200 ul의 proteolytic enzyme inhibitor mixture가 들어있는 용기에 하였다. Proteolytic enzyme inhibitor의 최종 농도는 EDTA 5 mg/ml, soybean trypsin inhibitor (SBTI) 50 BAEE/ml 및 aprotinin 200 KIU/ml였다. 혈액을 -20°C에서 보관하여 2~3일 이내에 측정하였다.

4. ANP 농도를 측정하기 위한 radioimmunoassay

ANP 농도의 측정은 선행 연구에 준하였다 (Cho et al., 1988; Cho et al., in press; Cho et al., in press). Sep-Pak C₁₈ cartridge를 4 ml의 acetonitrile과 4 ml의 0.1% trifluoroacetic acid (TFA)로 활성화시킨 후 1 ml의 혈장을 서서히 가하였다. 4 ml의 0.1% TFA로 씻어낸 후 Sep-Pak cartridge에 흡착된 ANP는 60%의 acetonitrile 1.5 ml로 elution하여 polyethylene 용기에 채집하고, 실온에서 질소 gas로 서서히 말렸다.

AP III에 대한 항체는 Cho 등의 방법에 따라 제조하였다 (Cho et al., 1987). 즉 AP III의 항체는 Godfriend 등 (1964)의 carbodiimide 방법에 따라 AP III와 bovine thyroglobulin과 conjugation시켜 동량의 Freund's adjuvant와 잘 섞어 6주간 1주 1회씩 여러 부분에 주사하였다. 채혈은 2주후부터 행하여 그 titer를 측정하였으며, 혈장은 56°C 30분동안 inactivation하여 사용하였다. Titer가 결정된 AP III의 항혈청은 사용에 편리하도록 소량으로 나누어 -70°C에 보관하였다.

¹²⁵I AP III의 제조를 위한 iodination은 chloramine-T method에 의하였다. 즉 sodium phosphate buffer (pH 7.4, 0.5 M) 25 ul가 들어있는 Eppendorf tube에 5 ug의 AP III (Peninsula Laboratories) 5 ug/5 ul와 sodium iodide-125 (1 mCi/10 ul, Amersham) 10 ul를 가하였다. Iodination하기 직전에 만든 chloramine-T (1.0 mg/ml) 10 ul를 가한 후 실온에서 40초간 조심스럽게 pipette로 혼합하고, sodium metabisulfate 대신 30% bovine serum albumin (BSA), 200 ul를 넣어 반응을 정지시킨 후 Sephadex G-25 column에 조심스럽게 가하고 0.1 N acetic acid로 0.5 ml/min의 속도로 elution하였다. Elution buffer는 0.3% BSA, 0.3% lysozyme과 0.1%

glycine을 포함한 0.1 N acetic acid였으며, fractionation을 위한 tube에는 200 KIU/ml의 aprotinin이 함유된 elution buffer 3 ml를 가해, 높은 radioactivity에 의한 AP III의 파괴를 방지하였다. 약 1.0 ml씩 fractionation한 직후 잘 혼합하여 25 ul속에 들어있는 radioactivity를 측정하고, iodinated AP III의 peak에 해당하는 fraction은 3,000,000 cpm/tube가 되도록 나누어 -20°C에 보관하였으며, tube당 8,000 cpm이 되도록하여 사용하였다.

AP III의 radioimmunoassay는 0.2% neomycin, 1 mM EDTA, 50 BAEE/ml SBTI, 0.02% sodium azide 및 1% BSA를 포함한 0.1 M Tris-acetate buffer (pH 7.40)를 사용하였다. Extracted sample은 100 ul의 Tris-acetate buffer로 reconstitute하여 사용하였다.

Assay는 통상적인 방법으로 equilibrated RIA 방법에 의하였으나, disequilibrated assay 방법도 사용하였는 바, 이때는 100 ul의 antiserum과 시료 100 ul를 4°C에서 24시간 incubation한 후 ¹²⁵I ANP를 동량 첨가한 후 24시간 후에 bound form과 free form을 분리하였다. Bound form과 free form의 분리는 charcoal suspension을 사용하였으나, goat anti-rabbit r-globulin antibody를 사용하는 double antibody technique를 사용하여 비교하였다.

Charcoal suspension은 renin assay 방법에 준하여 제조하였다. Renin 활성도의 측정은 Cho 등 (Cho et al., 1987)의 방법에 준하였으며, aldosterone 농도의 측정은 Diagnostic products corporation사의 solid phase RIA Kit를 이용하여 하였다.

5. 화학적 분석

채집한 뇨중 sodium과 potassium의 측정은 flame photometry에 의하였다.

6. 사용약물

사용한 약물중 trypsin, soybean trypsin inhibitor, l-ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl) carbodiimide hydrochloride, rabbit 및 bovine serum albumin, phenylmethylsulfonyl fluoride, neomycin, Trizma, phenylmercuric acetate, maleic acid, creatinine, para-aminohippuric acid, charcoal 은 Sigma 제, atriopeptin III는 Peninsula Lab제 및 Novabiochem

제, glucose는 Fluka제, Na ¹²⁵I는 Amersham제를 그리고 기타의 시약은 특급을 사용하였다.

7. 통계적 처리

실험결과의 통계적 처리는 Student paired t-test와 unpaired t-test에 의하였으며³¹⁾, P-value가 최소 0.05의 값을 보이는 경우 유의한 차이의 한계로 삼았다. 실험치의 표현은 mean±SE로 하였다.

실 험 결 과

1. 혈장 ANP 측정을 위한 radioimmunoassay (RIA) 방법

ANP에 specific한 항체를 얻기 위하여 면역한 가토 10마리중 2마리의 개체에서 사용 가능한 항체를 얻을 수 있었다. 항체 No. 4와 No. 9 모두 몇가지 상이한 ANPs와 선택적인 반응을 보였으며, S-S bond가 파괴된 C-terminal쪽의 fragments에 대하여서는 결합하지 않았다 (Fig. 1,2). 항체 No. 4와 No. 9는 모두 12번 위치에 isoleucine이 들어있는 atriopeptin I (rat atrial natriuretic peptide, r-ANP 5-25), atriope-

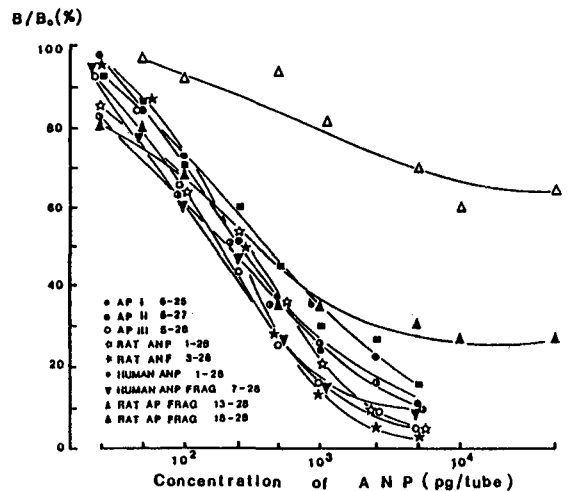


Fig. 1. Inhibition of binding of ¹²⁵I-atriopeptin III to anti-ANP rabbit antiserum No. 4 by ANPs and their fragments. B₀, ¹²⁵I-labelled tracer bound at zero-dose; B, ¹²⁵I-labelled tracer bound at dose shown on abscissa. B₀ and B values are corrected for non-specific binding (NSB).

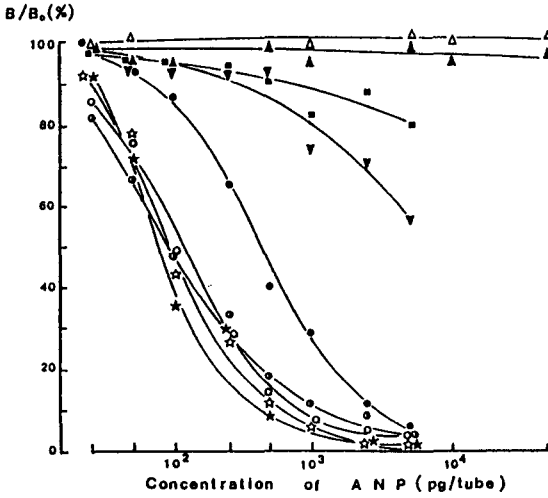


Fig. 2. Inhibition of binding of ¹²⁵I-atriopeptin III to anti-ANP rabbit antiserum No. 9 by ANPs and their fragments.

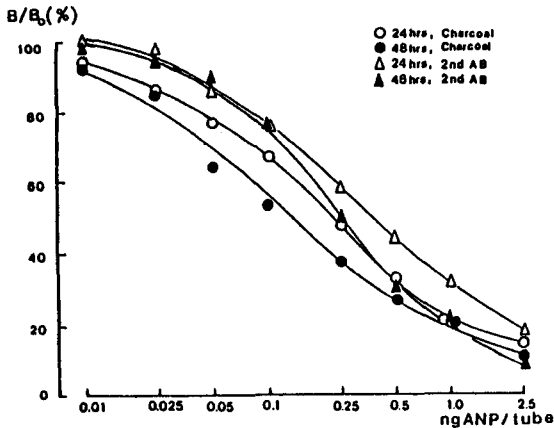


Fig. 3. RIA-calibrated curves for atriopeptin III. Either equilibrium or non-equilibrium incubations were used. Bound form was separated from free form by second body (anti-rabbit gamma globulin goat antiserum) or charcoal suspension.

ptin II (r-ANP, 5-27), atriopeptin III (r-ANP 5-28) 및 r-ANP 1-28과 선택적인 결합을 보였다. 반면에 12번 위치에 isoleucine 대신 methionine으로 대체되어 있는 인간형 ANP인 h-ANP 1-28에 대하여, 항체 No. 4는 선택적인 결합을 보이나, 항체 No. 9는 선택적인 결합을 보이지 않았다.

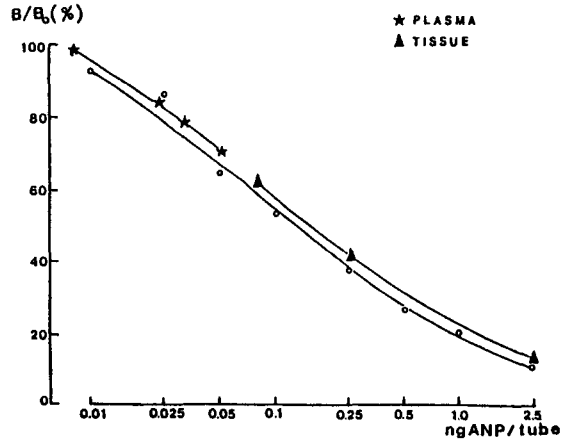


Fig. 4. Inhibition curves for atriopeptin III by plasma samples and tissue extract.

백서에서의 혈장 ANP의 측정은 r-ANPs와 선택적인 결합과 RIA에 적합한 특성을 갖춘 항체 No. 4를 사용하였으며, equilibrium 및 disequilibrium RIA 방법을 비교하였다.

Fig. 3에서 보이는 바와같이, bound form과 free form의 분리에 있어 second antibody의 사용이 꼭 좋은 결과를 보이는 것은 아니었으며, charcoal suspension에 의한 분리방법을 채택하였다.

혈장 및 조직내의 ANP는 그 희석에 따른 bound form의 생성이 예측되었던 바, 표준곡선에 평행함을 보여주어, 사용한 RIA 방법이 합리적임을 보여주었다 (Fig. 4).

2. 본태성고혈압백서 및 정상혈압 백서군의 혈압, 혈장 호르몬값 및 신장기능의 비교

정상상태에 있어서는 혈장 renin 활성도 및 aldosterone 농도는 고혈압군에서 낮았으나, 혈장 ANP 농도는 고혈압군에서 오히려 현저하게 높았다 (Table 1). 혈장 renin 및 aldosterone 농도는 전실험군을 종합할 때에 혈장 ANP 농도와는 유의한 상관관계를 보였다 (Fig. 5). 일정량의 주입액 투여 후 실험직전의 혈압은 정상혈압군인 Sprague-Dawley군 및 Wistar 백서군에서는 115.5 ± 2.8 , 118.2 ± 2.6 mmHg였으며, 고혈압백서군에서는 152.5 ± 33.1 mmHg로 현저한 차이를 보였다 (Table 2). 뇨량, 뇨 중 Na 및 K 배설량은 고혈압백서에서 유의하게 낮

Table 1. Basal levels in plasma renin concentration, atrial natriuretic peptide and aldosterone in Sprague-Dawley, Wistar and spontaneously hypertensive rats

| | SDR | WR | SHR |
|---------------------|----------------|----------------|-------------------------------|
| PRC (ng AI/ml/hr) | 47.03 ± 5.54 | 34.46 ± 1.55 | 21.07 ± 5.52* [*] |
| Plasma ANP (pg/ml) | 139.44 ± 28.70 | 102.35 ± 14.21 | 322.86 ± 55.40* ^{**} |
| Plasma Aldo (ng/ml) | 0.57 ± 0.07 | 0.89 ± 0.04 | 0.45 ± 0.12** |

Values are the mean ± SEM of 6 experiments. SDR, Sprague-Dawley rat ; WR, Wistar rat ; SHR, spontaneously hypertensive rat. PRC, plasma renin concentration ; Plasma ANP and Aldo, plasma atrial natriuretic peptide and aldosterone. *, Significantly different from Sprague-Dawley rat ; *, significantly different from Wistar rat, *, *, P < 0.05 ; **, P < 0.005.

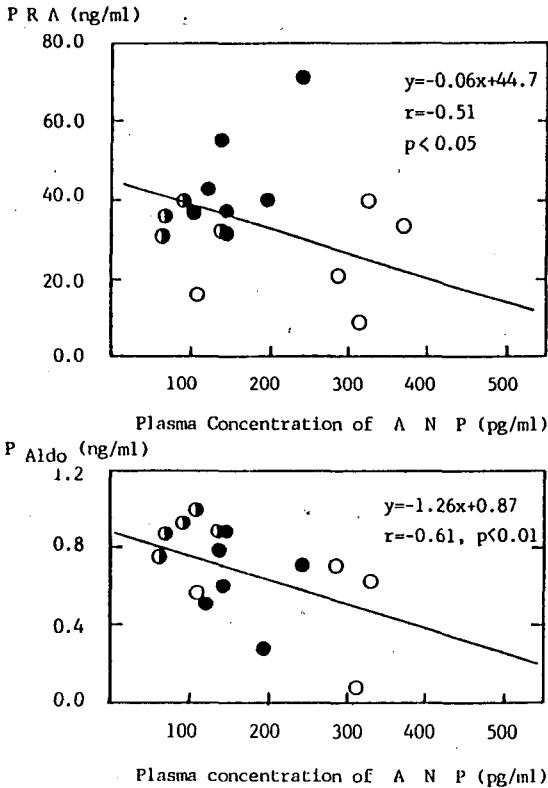


Fig. 5. Interrelationship between plasma ANP levels and plasma renin concentration or aldosterone in normotensive and hypertensive rats. ●, Sprague-Dawley rats ; ●, Wistar rats ; ○, spontaneously hypertensive rats.

았다 (Table 2). 주입액 투여전의 뇨량은 Sprague-Dawley, Wistar, 및 SHR에서 각각 73.0 ± 26 (n=6),

60 ± 19 (n=6), 및 64 ± 24 (n=5) ul/min/kg으로 비슷하였다. 이때 뇨중 Na 배설량은 Sprague-Dawley, Wistar 및 SHR에서 각각 5.35 ± 2.59 (n=6), 4.94 ± 1.71 (n=6) 및 1.62 ± 0.58 (n=5) uEq/min/kg으로 뇨중 K 배설량은 각각 9.02 ± 2.66 (n=6), 7.17 ± 1.14 (n=6) 및 3.11 ± 0.66 (n=5) uEq/min/kg으로 SHR 군에서 낮았다.

3. ANP 투여에 의한 신장기능 및 혈장내 호르몬 농도의 변화

ANP를 동맥내로 10분간 투여한 경우, 혈압은 정상혈압군, 고혈압백서군 모두에서 유의한 하강을 보였으며 (Table 3,4,5), 고혈압군에서 더 지속적으로 나타났다. 뇨량 및 Na 배설은 정상혈압군에서 약물 투여기간 동안 유의한 증가를 보였으나, SHR에서는 증가효과를 보이지 않았다.

혈장 renin 농도 또한 정상혈압 Sprague-Dawley에서는 감소를 보였으나, SHR에서는 감소의 경향은 보였으나 유의한 차이는 아니었다.

ANP를 40분간 투여한 경우, 정상 및 고혈압백서에서 모두 현저한 혈압의 하강을 보였으며, 고혈압백서군에서 훨씬 지속적인 효과를 보였다 (Table 6, 7,8). 뇨량의 증가는 투여 첫기간 동안만 현저한 반응을 보였으며, 약물의 지속적인 투여에도 불구하고 점차 원수준으로 접근하였다. Na 배설은 모든 실험군에서 투여 전기간동안 현저한 증가를 보였다.

ANP 투여에 의한 신장효과를 Δ change로 표현한 바 (Fig. 6). 투여 첫 20분동안 SHR에서 뇨량증가의 현저한 감약현상을 보였으며, Na 배설 증가효과도

Table 2. Differences in arterial blood pressure, urine volume and excreted amount of electrolytes in Sprague-Dawley, Wistar and spontaneously hypertensive rats after a given time hydration

| | SDR | WR | SHR |
|--------------------------|--------------------------|--------------------------|------------------------------|
| Blood pressure (mmHg) | 115.5 ± 2.8 (n=22) | 118.2 ± 2.6 (n=22) | 153.5 ± 3.1# #, ** (n=20) |
| Urine volume (ul/min/kg) | 157.82 ± 29.70 (n=22) | 118.09 ± 21.48 (n=22) | 86.75 ± 12.61* (n=20) |
| UNaV (uEq/min/kg) | 9.01 ± 2.27 (n=22) | 7.53 ± 1.80 (n=22) | 1.33 ± 0.29# #, ** (n=20) |
| UKV (uEq/min/kg) | 10.51 ± 1.12 (n=22) | 6.98 ± 0.83 (n=22) | 6.63 ± 1.06# (n=20) |

Values are the mean ± SEM. SDR, Sprague-Dawley rat ; WR, Wistar rat ; SHR, spontaneously hypertensive rat. UNaV, UKV, excreted amount of sodium and potassium. #, Significantly different from Sprague-Dawley rat ; *, significantly different from Wistar rat, #, *, P < 0.05 ; # #, ** P < 0.005.

Table 3. Effect of intra-arterial infusion for 10 minutes of atriopeptin III on renal function of unanesthetized Sprague-Dawley rats

| | I | II | III | IV | V | VI | VII |
|------|------------------|------------------|-------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|
| BP | 118.3 ± 5.7 | 117.5 ± 6.9 | 108.3* ± 7.6 | 109.2 ± 8.0 | 111.7 ± 8.8 | 111.7 ± 8.0 | 113.3 ± 7.1 |
| UV | 0.131 ± 0.046 | 0.110 ± 0.032 | 0.159 ± 0.040 | 0.082 ± 0.029 | 0.080 ± 0.028 | 0.065 ± 0.020 | 0.083 ± 0.025 |
| UNaV | 6.28 ± 2.18 | 6.66 ± 2.27 | 12.53 ± 3.39 | 5.16 ± 2.02 | 5.09 ± 2.00 | 4.34 ± 1.81 | 5.17 ± 2.27 |
| UKV | 11.21 ± 2.08 | 9.61 ± 1.79 | 11.09 ± 2.06 | 7.70 ± 1.66 | 8.22 ± 1.63 | 7.37 ± 1.85 | 8.36 ± 1.80 |
| PRC | 79.21 ± 30.60 | 65.80 ± 25.31 | 45.20* ± 18.21 | 64.04 ± 22.90 | 71.30 ± 29.00 | 69.70 ± 29.20 | 71.40 ± 29.60 |

Values are the means ± SEM of 9 experiments. I-VII, Urine collection periods of 20 minute duration each. Atriopeptin III, 1 ug/min/kg, was infused intra-arterially for 10 minutes after the second collection period. BP, blood pressure expressed as mmHg ; UV, urine volume expressed as ml/min/kg ; UNaV, UKV, the excreted amount of sodium and potassium expressed as uEq/min/kg ; PRC, plasma renin concentration expressed as ng A I/ml/hr. *, Significantly different from control period, P < 0.05.

SHR에서 현저히 감소되어 나타났다. ANP 투여기간 동안 혈장내 aldosterone 농도는 모두 감소하였으며, SHR에서 보다 지속적으로 나타났다(Table 6, 7, 8).

고 안

ANP의 생리적인 역할을 이해하는 데는 미량존재하는 혈장내 농도 측정이 가능하여야 할 것인데, 본

연구결과는 정확하고, 선택적이며 예민한 혈장내 ANP의 정량을 가능하게 하였다.

Atriopeptin III (r-ANP 5-28)로 면역시켜 얻은 가토의 No. 4 항체는 백서의 혈장내 ANP를 측정하는데 합리적인 결과를 보여주고 있다.

심방에서 합성되어 분비되는 ANP는 그 분자구조가 보다 더 큰 pro-ANP와 더불어 pro-ANP의 C-terminal end의 24-28개의 아미노산으로 형성된 몇 가지 상이한 구조가 존재함이 알려져 있으며, 사람

Table 4. Effect of intra-arterial infusion for 10 minutes of atriopeptin III on renal function of unanesthetized Wistar rats

| | I | II | III | IV | V | VI | VII |
|------|------------------|------------------|-------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|
| BP | 118.1 ± 4.3 | 117.5 ± 4.7 | 106.3** ± 5.6 | 110.0 ± 6.6 | 113.8 ± 6.1 | 113.8 ± 5.6 | 113.1 ± 5.3 |
| UV | 0.062 ± 0.018 | 0.055 ± 0.022 | 0.119* ± 0.050 | 0.050 ± 0.022 | 0.049 ± 0.020 | 0.049 ± 0.022 | 0.053 ± 0.017 |
| UNaV | 1.42 ± 0.46 | 1.11 ± 0.46 | 6.02 ± 3.14 | 2.35 ± 1.05 | 2.75 ± 0.38 | 3.55 ± 0.95 | 3.82 ± 2.10 |
| UKV | 4.91 ± 0.76 | 3.88 ± 0.64 | 7.29 ± 1.77 | 4.44 ± 0.80 | 4.86 ± 0.85 | 5.68 ± 1.22 | 6.61 ± 1.22 |
| PRC | 84.31 ± 16.94 | 79.82 ± 15.63 | 53.44 ± 9.23 | 62.92 ± 11.98 | 71.10 ± 13.48 | 88.40 ± 29.06 | 95.98 ± 28.70 |

Values are the means ± SEM of 10 experiments. The other legends are the same as Table 2. * Significantly different from control period. *, P < 0.05 ; **, P < 0.01.

Table 5. Effect of intra-arterial infusion for 10 minutes of atriopeptin III on renal function of unanesthetized spontaneously hypertensive rats

| | I | II | III | IV | V | VI | VII |
|------|------------------|------------------|-------------------|-------------------|------------------|------------------|------------------|
| BP | 151.9 ± 6.7 | 151.3 ± 7.1 | 141.3*** ± 6.7 | 144.4*** ± 6.9 | 145.6** ± 7.4 | 148.1 ± 7.4 | 147.5 ± 7.0 |
| UV | 0.094 ± 0.022 | 0.072 ± 0.021 | 0.060 ± 0.012 | 0.019 ± 0.005 | 0.028 ± 0.004 | 0.033 ± 0.005 | 0.058 ± 0.020 |
| UNaV | 2.40 ± 1.20 | 0.86 ± 0.31 | 2.55 ± 0.74 | 0.66* ± 0.17 | 0.66 ± 0.19 | 0.58 ± 0.16 | 0.47 ± 0.14 |
| UKV | 5.49 ± 1.23 | 5.43 ± 1.07 | 5.06 ± 0.61 | 4.32 ± 0.90 | 4.69 ± 0.60 | 4.76 ± 0.68 | 5.45 ± 0.95 |
| PRC | 45.70 ± 10.40 | 45.07 ± 8.46 | 37.60 ± 7.60 | 42.74 ± 6.94 | 45.40 ± 5.19 | 48.00 ± 7.95 | 46.91 ± 4.94 |

Values are the means ± SEM of 8 experiments. The other legends are the same as Table 2. *, Significantly different from control period. *, P < 0.05 ; **, P < 0.01 ; ***, P < 0.005.

과 개에서는 그 12번의 위치가 methionine으로, 생쥐, 백서 및 가토에서는 isoleucine으로 대체되어 차이가 있음이 보고되었다(Graham & Zisfein, 1986).

ANP의 12번 위치가 isoleucine 인지 또는 methionine 인지의 차이에 따라 항체의 결합특성에 차이가 있는 점은 ANP의 분자구조중 12번 위치는 면역학적으로 대단히 중요함을 보여주고 있다. ANP 항체의 특성을 규명한 본 연구의 결과에서 S-S bond가 파괴된 fragment에 대하여는 면역학적인 결합을 일으키지 않는 사실을 볼때에 그러한 생각은 더욱 확실한 것 같다.

인간형의 ANP(12-methionine ANP)나 백서형의 ANP(12-isoleucine-ANP)에 대하여 모두 선택적인 결합을 보이는 항체 No. 4와 인간형의 ANP에는 결합하지 않으나, 백서형의 ANP에는 선택적인 결합을 보이는 항체 No. 9를 동시에 사용하므로써, ANP의 구조가 알려져 있지 않은 동물의 ANP의 분자구조가 인간형에 속하는지 백서형에 속하는지 구명할 수 있을 것으로 생각된다. 일반적으로 RIA 방법에 있어 bound form의 분리에 사용되고 있는 second antibody에 의한 방법이 본 실험에서는 charcoal suspension 방법보다 더 유리한 방법이 되지 못한 것

Table 6. Effect of intra-arterial infusion for 40 minutes of atriopeptin III on renal function of unanesthetized Sprague-Dawley rats

| | I | II | III | IV | V | VI | VII |
|------|------------------|------------------|---------------------|--------------------|------------------|------------------|------------------|
| BP | 118.3 ± 4.5 | | 108.3 ± 3.4 | 100.8* ± 4.2 | | | 111.7 ± 3.9 |
| UV | 0.164 ± 0.041 | 0.163 ± 0.034 | 0.233*** ± 0.039 | 0.153 ± 0.028 | 0.098 ± 0.016 | 0.107 ± 0.022 | 0.120 ± 0.027 |
| UNaV | 11.17 ± 3.81 | 9.87 ± 3.13 | 19.02** ± 4.87 | 18.54*** ± 3.68 | 11.27 ± 2.05 | 6.04 ± 1.49 | 6.64 ± 1.73 |
| UKV | 9.47 ± 1.29 | 9.15 ± 1.29 | 10.53* ± 1.26 | 10.56 ± 1.63 | 8.74 ± 1.07 | 7.01 ± 0.95 | 8.30 ± 0.74 |
| Aldo | 1.17 ± 0.05 | | 1.05 ± 0.06 | 0.95** ± 0.04 | | | 1.04 ± 0.07 |

Values are the means ± SEM of 12 experiments. I-VII, Urine collection periods of 20 minute duration each. Atriopeptin III, 1 ug/min/kg, was infused intra-arterially for 40 minutes after the second collection period. BP, blood pressure expressed as mmHg ; UV, urine volume expressed as ml/min/kg; UNaV, UKV, the excreted amount of sodium and potassium expressed as uEq/min/kg ; Aldo, plasma aldosterone concentration expressed as ng/ml. *, Significantly different from control value. *, P < 0.05 ; **, P < 0.01 ; ***, P < 0.001.

Table 7. Effect of intra-arterial infusion for 40 minutes of atriopeptin III on renal function of unanesthetized Wistar rats

| | I | II | III | IV | V | VI | VII |
|------|------------------|------------------|-------------------|--------------------|------------------|------------------|------------------|
| BF | 121.4 ± 2.8 | | 114.5*** ± 3.3 | 107.3*** ± 3.3 | | | 118.2 ± 1.9 |
| UV | 0.163 ± 0.034 | 0.184 ± 0.026 | 0.253 ± 0.040 | 0.192 ± 0.023 | 0.076 ± 0.012 | 0.137 ± 0.031 | 0.159 ± 0.032 |
| UNaV | 12.62 ± 2.70 | 10.34 ± 2.08 | 19.89* ± 3.54 | 25.04*** ± 3.24 | 9.61 ± 1.15 | 8.38 ± 1.63 | 7.73 ± 1.63 |
| UKV | 8.53 ± 1.30 | 9.25 ± 1.06 | 11.36 ± 1.37 | 11.65 ± 1.26 | 8.72 ± 1.98 | 8.88 ± 1.58 | 8.85 ± 1.30 |
| Aldo | 1.38 ± 0.19 | | 1.09** ± 0.13 | 1.08*** ± 0.14 | | | 1.21 ± 0.15 |

Values are the means ± SEM of 11 experiments. The other legends are the same as in Table 6.

은, 사용하는 buffer system의 차이와, 항체 특성의 차이에서 연유할 것으로 추측된다.

정상상태의 백서군에서, SHR의 혈장내 ANP 량이 현저히 증가되어 있었으며, 이는 SHR에서 비슷한 결과를 보고한 바(Imada et al., 1985; Gutkowska et al., 1986)와 일치하였다. 즉 혈압이 이미 항진되어 있는 때의 혈장내 ANP 농도는 고혈압의 진행과 더불어 심방으로 부터의 분비촉진에 의하여 혈장내

농도의 증가를 일으켰을 것으로 생각된다(Cantin & Genest, 1985). 이러한 결과는 본태성 고혈압 환자의 혈장내 ANP 농도의 증가를 보고한 제가들(Sugawara et al., 1985; Sagnella et al., 1986)의 결과와 비교할만 하였다. 혈장내 ANP 농도가 SHR에서 고혈압이 발현되기 전에는 대조 정상혈압군의 백서와 차이가 없었으나, 연령이 증가하여 고혈압이 발현되는 때에 이르러서야 정상혈압군에 비하여 유의

Table 8. Effect of intra-arterial infusion for 40 minutes of atriopeptin III on renal function of unanesthetized spontaneously hypertensive rats

| | I | II | III | IV | V | VI | VII |
|------|------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|
| BP | 154.5 ± 2.0 | | 148.0 ± 1.7 | 141.0 ± 2.8 | | | 147.0 ± 3.8 |
| UV | 0.065 ± 0.012 | 0.065 ± 0.015 | 0.096 ± 0.023 | 0.147 ± 0.032 | 0.081 ± 0.018 | 0.045 ± 0.010 | 0.075 ± 0.027 |
| UNaV | 1.18 ± 0.44 | 0.72 ± 0.32 | 3.48 ± 1.35 | 8.64 ± 2.35 | 4.02* ± 0.97 | 1.89 ± 0.61 | 2.33 ± 0.88 |
| UKV | 6.06 ± 1.37 | 5.37 ± 1.42 | 6.49 ± 1.89 | 8.58 ± 1.53 | 7.10 ± 1.66 | 5.19 ± 1.62 | 6.51 ± 1.52 |
| Aldo | 1.00 ± 0.08 | | 0.75* ± 0.04 | 0.71* ± 0.05 | | | 0.76* ± 0.07 |

Values are the means ± SEM of 10 experiments. The other legends are the same as in Table 6.

하게 높은 혈장내 농도를 보이는 것은 (Imada et al., 1985; Gutkowska et al., 1986), 고혈압에 의한 심방의 stretch 때문으로 생각된다. 이러한 현상은 다른 고혈압 모형인 salt-sensitive Dahl 백서에서도 볼 수 있으며 (Gutkowska et al., 1986), 이러한 백서의 높은 혈장내 ANP 농도는 고혈압 때문으로 생각되고 있다.

정상혈압군과 비교할 때에, SHR에서 혈장내 renin 활성도와 aldosterone 농도의 차이를 보여준 본 연구결과는, SHR에서 renin-angiotensin-aldosterone계의 강화를 발견하지 못하였던 연구들 (Koletsky et al., 1970; Shiono & Sokabe, 1976; Freeman et al., 1975)과 비슷하였으며, SHR에서 보여준 이러한 억제현상이, 항진된 혈장내 ANP 효과 때문인지, 상이한 유전적인 요인에 의하여 나타나는 것인지는 확실하지 않다. 백서군 전체를 종합적으로 볼 때는 혈장내 renin 및 aldosterone 농도는 혈장내 ANP 농도와 역상관관계를 보이고 있으나 (Fig. 6), 각각의 백서군내에서도 이러한 상관관계가 있는지는 앞으로 더 추구할 바이다.

일정량의 hypotonic solution 주입에 의한 hydration에 대한 뇨량, Na 배설의 증가반응에 있어서 SHR에서 현저히 감약되어 있다. 이는 세포외액량의 증가가 ANP 분비 증가의 중요한 이유가 될 수 있다는 사실로부터 생각할 때에 (Cantin & Genest, 1985; Palluk et al., 1985), SHR에서는 이러한 반응에 차이가 있는 것인지 하는 의문을 갖게 하였다.

ANP의 동맥내 투여에 의한 diuresis와 natriuresis는 그 변화의 절대치를 기준하여 생각할 때, SHR에서 강화되어 있지 않았다. 이러한 결과는 Sonnenberg 등 (1983), Marsh 등 (1985)의 보고와 일치하고 있으나, 투여한 ANP에 대한 SHR에서의 강화된 신장반응을 보고한 제가들 (Kihara et al., 1985; Pang et al., 1985; Gellai et al., 1986)의 보고와는 차이를 보이고 있다. Sodium 대사의 이상에 의하여 고혈압이 발생하는 Dahl 백서의 salt-sensitive 군에서는 투여한 ANP에 의한 뇨량 및 Na 배설증가효과가 현저히 감약되어 있으므로 (Hirata et al., 1984; Snaider & Rappo, 1985) 그 고혈압의 한 원인으로 ANP에 대한 신장의 감약된 반응성을 의심할 수 있으나, 또다른 고혈압의 동물모형인 DOCA-salt 고혈압백서에서는 오히려 ANP에 대한 신장반응성 즉 뇨량과 Na 배설증가효과가 강화되어 있음이 보고되어 있어 (Kondo et al., 1986), 고혈압백서 신장에서의 ANP의 반응성에 관한 포괄적인 해석은 아직 어려운 시기에 있는 것 같다.

SHR에서 ANP에 의한 이뇨효과가 다른 보고와 차이를 보이는 이유가 실험방법상의 차이에서 오는 것인지는 아직 알 수 없으나, SHR에서 arginine vasopressin에 의한 diuresis 및 natriuresis가 정상혈압 대조군에 비교하여 현저하게 억제되어 있다는 점 (Kim et al., 1987), furosemide 투여에 의한 renin 분비 증가효과가 감약되어 있다는 점 (Cho, 1986), 그리고 angiotensin II 및 arginine vasopressin에 의한 renin

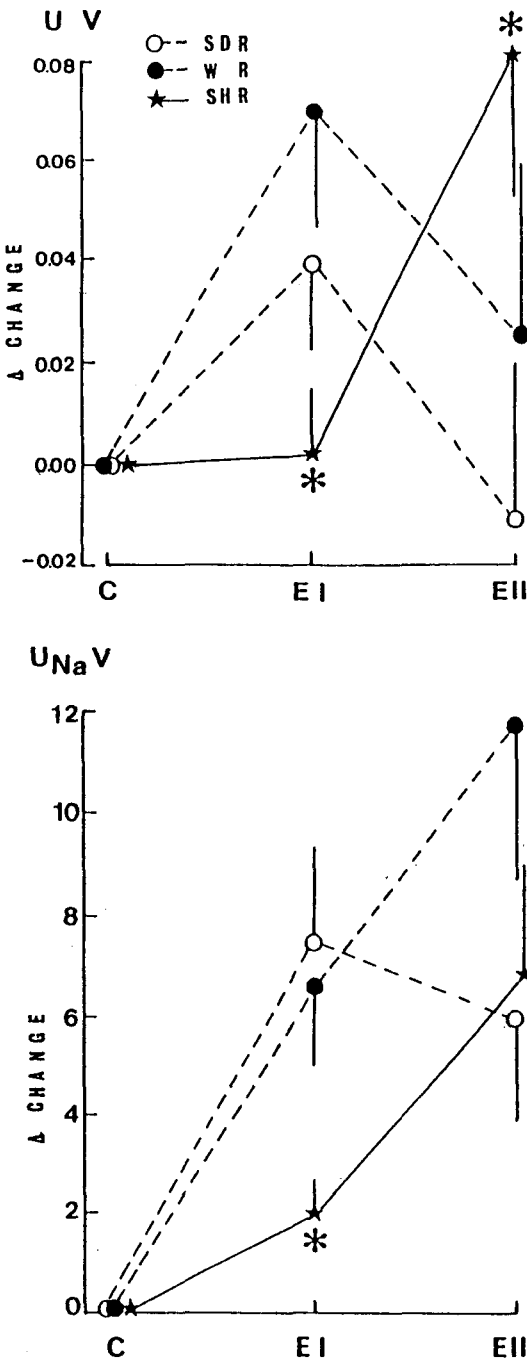


Fig. 6. Effect of intra-arterial infusion for 40 minutes of atriopeptin III on urine volume and sodium excretion in normotensive and hypertensive rats. *, Significantly different from Sprague-Dawley rat, $P < 0.05$.

분비 억제기전 이 감약되어 있다는 점 (Chung & Cho, 1985) 등을 생각할 때에, 신장기능에 영향을 미칠 수 있는 몇가지 peptide hormone에 대한 반응성이 SHR에서는 전반적으로 변조되어 있으며, 이러한 변조된 기능으로 인하여 ANP 투여에 의한 신장기전의 차이를 보이는 것으로 생각된다. 본 결과에서 보는 바와 같이, ANP에 의한 renin 분비감소의 기능이 정상혈압 대조군에서 보다는 더 감약되어 있음은 그러한 생각을 더욱 가능하게 하여 주었다.

ANP의 신장기능 및 호르몬 분비억제기능, 혈관 확장기능이 모두 세로막의 guanylate cyclase를 통한 c-GMP의 농도증가와 유관함이 밝혀진바 있으며 (Graham & Zisfein, 1986), ANP의 binding site와 guanylate cyclase와 대단히 밀접하게 관련되어 있을 가능성 (Kuno et al., 1986)을 생각할 때에, SHR에서의 신장기능의 감약현상이 ANP의 receptor 수준인지, post-receptor 수준에 있는 것인지는 앞으로 더욱 추구하여야 할 바로 생각된다.

ANP 투여에 의한 renin 분비 감소의 기전, 또는 strain 간의 차이가 혈류역동학적인 변화나 전해질배설량의 변화에 의하여 나타나는 것으로 생각되지 않으며 (Lee & Cho, 1986), 사구체방세포에 대한 직접 작용을 배제할 수는 없을 것 같다.

ANP 투여에 의한 혈압하강반응에는 SHR에서 정상혈압군과 비교하여 볼 때 차이가 없으며, 혈장 ANP 농도는 오히려 높아 있음에도 신장반응이 약화되어 있음은, SHR의 병인과 관련되어 있을 수도 있을 것이다.

결 론

정상혈압백서군과 본태성고혈압의 백서모형인 SHR에서 혈장내 ANP 농도를 측정하고자 시도하였으며, 동맥내 ANP 투여에 의한 신장기능의 변화를 검색하고자 하였다.

일정량의 hypotonic solution 투여에 의한 diuresis 및 natriuresis 반응은 SHR에서 현저히 감약되어 있었다.

동맥내 ANP 투여에 의한 뇨량 및 Na 배설증가반응은 SHR에서 현저하게 감약되어 있었다.

이상의 결과는 ANP에 대한 신장반응성이 SHR에

서 현저하게 감약되어 있음을 암시하고 있으며, 이러한 감약된 반응성이 SHR의 병태생리와 관련되어 있을 수 있음을 추론하였다.

ACKNOWLEDGEMENTS

실험을 위하여 도와준 송명희, 남경화, 나은진양에게 감사의 뜻을 여기에 표하고자 합니다.

REFERENCES

- Baines AD, De Bold AJ & Sonnenberg H (1983). Natriuretic effects of atrial extract on isolated perfused rat kidney. *Can J Physiol Pharmacol* 61, 1462-1466
- Burnett JC, Granger JP & Oppenorth TJ (1984). Effects of synthetic atrial natriuretic factor on renal function and renin release. *Am J Physiol* 247, F863-F866
- Cantin M & Genest J (1985). The heart and the atrial natriuretic factor. *Endocrine Rev* 6, 107-127
- Cho KW, Kim SH & Koh GY (1987). Radioimmunoassay and characterization of renin-angiotensin system in the freshwater turtle. *J Exp Zool* 242, 255-262
- Cho KW, Kim SH, Koh GY & Seul KH (in press). Renal and hormonal responses to atrial natriuretic peptide and turtle atrial extract in the freshwater turtle, *Amyda Japonica*. *J Exp Zool*
- Cho KW, Seul KH, Kim SH, Ryu H, Seul KM & Koh GY (1988). Epicardial release of immunoreactive atrial natriuretic peptides in inside-out perfused rabbit atria. *Biochem Biophys Res Commun* 153, 811-817
- Cho KW, Seul KH, Ryu H, Kim SH & Koh GY (in press). Characteristics of distension-induced release of immunoreactive atrial natriuretic peptide in isolated perfused rabbit atria. *Regul Peptides*
- Choi IS (1986). Effects of several factors on the renin secretion in spontaneously hypertensive rats. *Chonnam Univ Graduate School* (in Korean)
- Chung SK & Cho KW (1985). Some aberrations of the renin-angiotensin system in spontaneously hypertensive rat. *Kor J Physiol* (in Korean)
- De Bold AJ, Borenstein HB, Veress AT & Sonnenberg H (1981). A rapid and potent natriuretic response to intravenous injection of atrial myocardial extract in rats. *Life Sci* 28, 89-94
- De Bold AJ & Salerno TA (1983). Natriuretic activity of extracts obtained from hearts of different species and from various tissues. *Can J Physiol Pharmacol* 61, 127-130
- Freeman RH, Davis JO, Varsono-Aharon N, Ulick S & Weinberger (1975). Control of aldosterone secretion in the spontaneously hypertensive rat. *Circ Res* 37, 66-71
- Garcia R, Cantin M, Thibault G, Ong H & Genest J (1982). Relationship of specific granules to the natriuretic and diuretic activity of rat atria. *Experientia* 38, 1071-1073
- Gauer OH & Henry JP (1961). Cardiac receptors and fluid volume control. *Prog Cardiovasc Dis* 4, 1-26
- Gellai M, DeWolf RE, Kinter LB & Beeukes R (1986). The effect of atrial natriuretic factor on blood pressure, heart rate, and renal functions in conscious, spontaneously hypertensive rats. *Circ Res* 59, 56-62
- Goodfriend TL, Levine L & Fasman GD (1964). Antibodies to bradykinin and angiotensin: A use of carbodiimides in immunology. *Science* 144, 1344-1346
- Graham RM & Zisfein WG (1986). Atrial natriuretic factor: Biosynthetic regulation and role in circulatory homeostasis. In, *The heart and cardiovascular system*, edited by Fozzard HA et al., Raven Press, New York, p1559-1572
- Gutkowska J, Horky K, La-hance C, Raczk K, Garcia R, Thibault G, Kuchel O, Genest J & Cantin M (1986). Atrial natriuretic factor in spontaneously hypertensive rats. *Hypertension* 8 (Suppl I), I137-I140
- Gutkowska J, Kuchel O, Raczk K, Buu NT, Cantin M & Genest J (1986). Increased plasma immunoreactive atrial natriuretic factor concentrations in salt sensitive Dahl rats. *Biochem Biophys Res Commun* 136, 411-416
- Henry JP, Gauer OH & Reeves JL (1956). Evidence of the atrial location of receptors influencing urine flow. *Circ Res* 4, 85-90
- Hirata Y, Ganguli M, Tobian L & Iwai J (1984). Dahl S rats have increased natriuretic factor in atria but are markedly hypotensive to it. *Hypertension* 6 (Suppl I), I148-I155
- Imada T, Takayanagi R & Inagami T (1985). Changes in the content of atrial natriuretic factor with the progression of hypertension in spontaneously hypertensive rats. *Biochem Biophys Res Commun* 133, 759

-765

- Jamieson JD & Palada GE (1964). Specific granules in atrial muscle. *J Cell Biol* 23, 151-172
- Keeler R & Azzarolo (1983). Effects of atrial natriuretic factor on renal handling of water and electrolytes in rats. *Can J Physiol Pharmacol* 61, 996-1002
- Kihara M, Nakayama K, Nakao K, Sugawara A, Morii N, Sakamoto M, Suda M, Shimokura M, Kiso Y, Imura H & Yamori Y (1985). Accelerated natriuresis induced synthetic atrial natriuretic polypeptide in spontaneously hypertensive rats. *Clin Exp Hypertens A7*, 539-551
- Kisch B (1956). Electron microscopy of the atrium of the heart. 1. Guinea Pig. *Exp Med Surg* 14, 99-112
- Kim JH, Cho KW & Yun YY (1987). Effects of arginine vasopressin on the renal function in spontaneously hypertensive rats. *Kor J Physiol* 21, 291-296 (in Korean)
- Koletsky S, Shook P & Rivera-Velez (1970). Lack of increased renin-angiotensin activity in rats with spontaneously hypertension. *Proc Soc Exp Biol Med* 134, 1187-1190
- Kondo K, Kida O, Kangawa K, Matsuo H & Tanaka (1986). Natriuretic and hypotensive effects of alpha-human atrial natriuretic polypeptide in anesthetized DOCA-salt hypertensive rats. *Clin Exp Pharmacol Physiol* 13, 97-101
- Kuno T, Andresen JW, Kamisaki Y, Waldman SA, Chang LY, Saheki S, Leitman DC, Nakane M & Murad F (1986). Co-purification of an atrial natriuretic factor receptor and particulate guanylate cyclase from rat lung. *Science* 261, 5817-5823
- Lee JK & Cho KW (1986). Effect of atrial natriuretic factor on the renal function and renin release in unanesthetized rabbit. *Kor J Physiol* 20, 103-124 (in Korean)
- Maack T, Camargo MJF, Kleinert HD, Laragh JH & Atlas SA (1985). Atrial natriuretic factor: structure and functional properties. *Kidney Int* 27, 607-615
- Maack T, Marion DN, Camargo MJF, Kleinert HD, Laragh JH, Vaughan ED Jr & Atlas SA (1984). Effects of auriculin (atrial natriuretic factor) on blood pressure, renal function, and the renin-aldosterone system in dogs. *Am J Med* 77, 1069-1075
- Marie JP, Guillemot H & Hatt PY (1976). Le degre de granulation des cardiocytes auriculaires. *Pathol Biol* 24, 549-554
- Marsh EA, Seymour AA, Haley AB, Whinnery MA, Napier MA, Nutt RF & Blaine EH (1985). Renal and blood pressure responses to synthetic atrial natriuretic factor in spontaneously hypertensive rats. *Hypertension* 7, 386-391
- Palluk R, Gaida W & Hoefke (1985). Atrial natriuretic factor. *Life Sci* 36, 1415-1425
- Richards AM, Nicholls MG, Espiner EA, Ikram H, Yandle TG, Joyce SL & Cullens MM (1985). Effects of alpha-human atrial natriuretic peptide in essential hypertension. *Hypertension* 7, 812-817
- Pang SC, Hoang MC, Tremblay J, Cantin M, Garcia R, Genest J & Hamet P (1985). Effect of natural and synthetic atrial natriuretic factor on arterial blood pressure, natriuresis and cyclic GMP excretion in spontaneously hypertensive rats. *Clin Sci* 69, 721-726
- Sagella G, Markandu ND, Shore AC & MacGregor (1986). Raised circulating levels of atrial natriuretic peptide in essential hypertension. *Lancet* 1, 179-181
- Seymour AA, Blaine EH, Mazack EK, Smith SG, Stabilito II, Haley AB, Napier MA, Whinnery MA & Nutt RF (1985). Renal systemic effects of synthetic atrial factor. *Life Sci* 36, 33-44
- Shiono K & Sokabe H (1976). Renin-angiotensin system in spontaneously hypertensive rats. *Am J Physiol* 231, 1295-1299
- Snajdar RM & Rapp JP (1985). Atrial natriuretic factor in Dahl rats. Atrial content and renal and aortic responses. *Hypertension* 7, 775-782
- Snedecor GH & Cochran WG (1967). Statistical methods, 6th ed., Ames, Iowa State Univ
- Sonnenberg H, Milojevic S, Chong CK & Veress AT (1983). Atrial natriuretic peptide: Reduced cardiac content in spontaneously hypertensive rats. *Hypertension* 5, 672-675
- Sugawara A, Nakao K, Sakamoto M, Morri N, Yamada T, Itoh H, Shiono S & Imura H (1985). Plasma concentration of atrial natriuretic polypeptide in essential hypertension. *Lancet* 2, 1426-1427
- Tang J, Song DL, Suen MZ & Xie CW (1986). Alpha-human atrial natriuretic polypeptide (Alpha-hANP) in normal volunteers and patients with heart failure or hypertension. *Peptides* 7, 33-37