

연령증가에 따른 Atrial Natriuretic Peptide의 신장과 호르몬 효과

전북대학교 의과대학 생리학교실 및 소아과학 교실**
원광대학교 의과대학 소아과학 교실*

김종덕* · 김선희 · 김정수** · 조경우

(1989년 4월 19일 접수)

= Abstract =

Effects of Atrial Natriuretic Peptide on Renal and Hormonal Balances in terms of Aging in Rabbits

Jong Duk Kim*, Suhn Hee Kim, Jung Soo Kim** and Kyung Woo Cho

*Departments of Physiology and Pediatrics**, Jeonbuk National University Medical School*

**Department of Pediatrics, Wonkwang University Medical School*

Mammalian cardiocytes secrete atrial natriuretic peptides (ANPs) into plasma, which cause marked natriuresis, diuresis, vasorelaxation and inhibition of hormone secretions.

Aging influences the ability of the kidney both to conserve and to excrete sodium; i.e., in old animals, the excretory capacity of sodium is reduced and the time required to excrete sodium load is prolonged. Therefore, it is possible that animals differing in ages may respond differently to ANP. In the present study, we determined whether the renal, hormonal and vascular effects of ANP may be influenced by aging in conscious rabbits.

The plasma renin concentration decreased with aging but plasma ANP concentration was significantly lower only in 24-month-old rabbits. Plasma aldosterone concentration and atrial ANP content did not change by aging. In 1-month-old rabbits, ANP (atriopeptin III, 3 ug/kg) administered intravenously caused hypotension and decreased in plasma renin and aldosterone concentrations, but did not cause diuresis and natriuresis. In 2 to 5 month-old rabbits, ANP caused hypotension, decreases in plasma renin and aldosterone concentrations and marked renal effects. However, in 24-month-old rabbits, all the above effects of ANP was blunted. With hydration of physiological saline at a rate of 15 ml/kg/h for 2hr, urine volume and glomerular filtration rate did not change but the electrolyte excretion as well as fractional excretion of sodium significantly increased. The plasma concentrations of active renin and aldosterone were decreased but plasma inactive renin and ANP concentrations were increased. The changes in renal function and plasma level of hormone showed no differences in different ages.

These results suggest that the peripheral vascular receptors to ANP may develop earlier than those in the kidney, and the attenuated vascular and renal responses to ANP in the old age may be due to age-related modifications in renal function and blood vessel.

Key Words: Renin aldosterone renal Function rabbit

서 론

심방의 확장이 요량의 증가를 일으키고 심장내 존재하는 수용체가 세포외액의 조절에 관여함이 보고되었다(Henry et al, 1956). 1956년 Kisch는 심방의 심방세포내에는 심실세포에서는 볼 수 없는 독특한 과립이 존재함을 발견하였으며, Jamieson과 Palade (1964)는 심방세포에 존재하는 이러한 특수한 과립이 여러 종류의 포유동물에 널리 분포하고 있음을 확인하고, 심방세포는 수축기능을 가지고 있을 뿐만 아니라 세포내에서 어떠한 물질을 합성하여 밖으로 분비할 수 있는 특성도 가질 것이라고 추측하였다. 1979년 De Bold는 수분 또는 전해질의 고갈에 의하여 백서 심방세포의 과립이 증가함을 관찰하고, 심방세포내의 특수 과립은 수분 및 전해질조절과 관련한 것이라 보고하였다.

1981년 De Bold 등은 백서 심방 추출액(atrial natriuretic factor, atrial natriuretic peptide, ANP)을 마취백서 정맥내 투여하여 신속하고 강력한 요량 및 요중 Na 배설량의 증가를 보았고 이러한 효과는 사구체여과율의 변화없이 나타남을 관찰하였으며, 심실추출액은 하등의 효과를 나타내지 않았음을 보고하였다. 이러한 심방추출액에 의한 요량 및 요중 Na 배설 증가효과는 심방세포내 특수한 과립에 의하여 나타남이 Garcia등(1982)의 보고에 의하여 밝혀졌다. ANP의 신장기능에 영향을 미치는 작용 기전에 관하여서는 상이한 보고가 있어 심방추출액 또는 합성 ANP 투여에 의하여 나타나는 요량 및 Na 배설증가효과는 가장 중요한 작용의 하나이나, 이때 백서, 개, 가토에서는 마취여부에 관계없이 사구체여과율은 현저하게 증가한다고 하였으나(Maack et al, 1985; Palluk et al, 1985; Baines et al, 1983; Burnett et al, 1984; Maack et al, 1984) 이에 반하여 Seymour등(1985)은 마취한 개에서 ANP의 직접 신동맥 투여로 요량 및 Na 배설증가효과는 관찰할 수 있으나 사구체여과율의 증가는 볼 수 없다고 보고하므로써, 혈류역학적인 변화없이도 이뇨효과가 일어날 수 있음을 암시하였다. Lee 및 Cho(1986)는 무마취 가토에서 소량의 ANP를 신장내로 직접 투여하면 사구체여과율과 신혈류량의 증가를 일으킬

뿐 아니라 유리수분 배설의 증가와 신장으로부터의 renin 분비의 억제를 일으킴을 보고하여 ANP의 신장내 작용 기전이 간단하지 않음을 암시하였다.

혈장 ANP 농도는 급격한 수분 및 식염섭취에 의해 현저히 증가하며(Pettersson et al, 1986; Sarazar et al, 1986), 심한 탈수나 실혈에 의해서는 현저히 감소한다고 연구되었고(Januszewicz et al, 1986), 그리고 울혈성심부전증(Burnet et al, 1986), 빈맥(Schiffrin et al, 1985), 만성신부전증(Hasegawa et al, 1986) 및 고혈압환자(Sugawara et al, 1985)에서는 현저히 증가된다고 보고하였다. ANP는 제대혈에서도 발견되었으며, 생후 2~4일된 신생아(Weil et al, 1986)와 고령자(Ohashi et al, 1987)에서 혈장내 ANP가 높다는 보고도 있으나 나이에 따른 혈장 ANP 농도의 차이가 심방에서의 ANP 분비 또는 합성속도의 차에 기인한 것인지, 또는 대사분해 속도의 차이에 의한 것인지는 아직 보고된 바 없으며, 나이에 따라 혈장 ANP 농도의 상이함이 외인성 ANP에 대한 신장기능, renin 및 aldosterone의 반응성을 변조시킬 수 있는지도 알려진 바 없다.

Luft등(1980)은 사람에서 나이가 들에 따라 사구체여과율이 감소하고 renin-angiotensin system이 약화되어 Na의 항상성이 기본적으로 변화가 되어가며 급격한 식염섭취 후에 Na 배설에 이상이 생겨 식염에 의한 수분의 저류에 의해 고혈압이 발생할 수 있는 가능성이 더 크다고 보고(Somlyo & Somlyo, 1970)하였다. 또한 나이가 들에 따라 혈관에 구조적 변화가 오게되어 약물에 대한 반응성이 달라진다고 알려졌다(Emmick & Cohen, 1986). 따라서 신장과 혈관에 작용하는 ANP 효과가 연령에 따라 상이할 것으로 기대되나 이에 관한 보고가 많지 않다.

저자들은 생후 1, 2, 3, 5, 24개월된 무마취 가토에서 정상 혈장 및 심방내의 ANP 농도, 혈장 aldosterone 및 renin 활성도를 측정하고 ANP 투여에 의한 신장기능, 혈장 renin 및 aldosterone 농도의 변화를 비교 관찰하였다.

실 험 방 법

1. 실험동물

실험동물은 체중 0.5 g~3 kg 내외의 백색가토를

숫컷만 사용하였으며, 실험전 일주일간 물과 사료를 충분히 주어 자연채광 상태에서 사육하였다.

2. 나이에 따른 혈장 renin 활성도, atrial natriuretic peptide 및 aldosterone 농도의 변화에 관한 실험

백색가토를 목을 움직이지 못하도록 고안된 고정틀에 조심스럽게 넣어 안정시킨후 24 G Neoflon needle tubing을 중심이동맥에 삽입하고 채혈하였다. ANP 측정을 위한 채혈은 혈액 1 ml당 aprotinin 200 KIU/ml, EDTA 1 mg/ml, PMSF 100 ug/ml가 들어있는 차가운 polyethylene 시험관에 행하였으며, 혈장 renin 활성도 및 aldosterone의 측정을 위한 채혈은 EDTA 1 mg/ml가 들어있는 차가운 시험관에 행하였다. 혈장은 4°C, 3,000 rpm으로 15분간 원심분리하여 -20°C에 보관하였으며, 모든 hormone의 측정은 2일 이내에 행하였다. 채혈후 심방내의 ANP 농도를 측정하기 위해, 가토의 두부를 강타하여 희생시킨후 흉곽을 열어 양측 심방을 분리하여 차가운 생리적 식염수에 씻어 혈액을 제거하고, 0.1 N acetic acid 4 ml가 들어있는 시험관에 넣었다. 양측 심방의 wet weight를 측정하고 100°C에서 5분간 가열하여 proteolytic enzyme을 제거하였으며, Polytron homogenizer를 사용하여 4°C에서 마쇄하였다. 10,000 xg로 원심분리하여 상층액을 분리하여 2일 이내에 ANP 농도를 측정하였다.

3. ANP가 신장기능에 미치는 효과를 보기 위한 실험

무마취가토에서 채뇨하기 위해 Foley catheter(F #5)를 방광에 삽입하고 고정틀에 넣어 자유로운 운동을 금하게 하였다. 채혈 및 혈압의 변화를 관찰하기 위해, 중심이동맥 주위를 lidocaine으로 국소마취시킨 후 heparin이 들어 있는 24 G polyethylene (PE)관을 삽입하였으며, 약물 투여를 위해 1 ml/hr의 속도로 생리적 식염수를 이 정맥을 통해 주입하였다. 1시간 동안 안정시킨 후 30분 간격으로 3~4회 집뇨하여 대조치로 사용하였으며, atriopeptin III (rat-ANP 5-28, AP III) 3 ug/kg 투여하고 계속하여 5~6회 집뇨하였다. Atriopeptin III(Nova Biochem)은 1 ug/ml되게 0.1% bovine serum albu-

min(BSA)이 들어있는 생리적 식염수로 희석하여 투여하였다. 실험이 끝난후 furosemide 1 mg/kg을 투여하여 ANP의 신장작용을 확인하였다.

혈압의 측정은 중심이동맥에 삽입된 PE관에 연결된 압력변환기를 통하여 physiograph에 기록하였다. 혈중 renin 활성도의 변동을 보기 위한 채혈은 집뇨기의 중간에 압력변환기와 중심이동맥 사이에 위치한 threeway stopcock를 통해 heparinized capillary tube에 약 70 ul씩 하였으며, 혈중 aldosterone 농도의 변화를 보기위한 채혈은 약물투여 30분전과 약물투여 30분, 그리고 120분 후에 150 ul씩 하였다. 채취한 혈액은 capillary centrifuge로 4°C에서 5분간 원심시킨 후 hematocrit를 측정하고 25 ul의 혈장을 신장절제가토에서 얻은 renin 기질에 가해 냉동보관하여 일주일 이내에 측정하였다.

4. Hydration에 의한 혈장 ANP, aldosterone 및 renin 활성도의 변화에 관한 실험

무마취 백색가토에 집뇨하기 위한 Foley catheter와 채혈하기 위한 PE관을 위와 동일한 방법으로 삽입하였다. 30분이상 안정시킨 후 혈정내 ANP, renin 및 aldosterone 측정을 위해 상술한 방법으로 채혈하였으며 20분간 요를 채취하여 대조치로 사용하였다. 생리적 식염수를 15 ml/kg/hr의 속도로 이 정맥을 통하여 hydration시켰으며, 20분 간격으로 집뇨하였다. Hydration시킨 2시간 후에 정확하게 동일한 방법으로 채혈하였다. 혈액은 3,000 rpm으로 4°C 하에서 15분간 원심시켜 혈장을 분리하여 -20°C에 보관하여 2일 이내에 측정하였다.

5. Atrial natriuretic hormone 농도 측정을 위한 Radioimmunoassay

혈장내의 ANP는 Sep-Pak C₁₈ cartridge를 이용하여 추출하였으며, 농도의 측정은 선행연구에 준하였다(Cho et al, 1988 a; Cho et al, 1988 b; Cho et al, 1989; Kim et al, 1988).

ANP 농도의 방사면역측정법은 0.2% neomycin, 10 mM EDTA, 50 BAEE/ml soybean trypsin inhibitor (SBTI), 4 ug/ml phenylmethylsulfonyl fluoride (PMSF), 0.02% sodium azide 및 1% BSA를 포함한 0.1 M Tris-acetate buffer (pH 7.40)를 사용하

여 행하였다. 심방내의 ANP 농도는 통상의 RIA 방법에 의하였으나, 혈장내의 ANP 농도는 disequibrated assay 방법으로 하였는 바, 이때는 100 ul의 antiserum과 시료 100 ul를 4°C에서 24시간 incubation한 후 동량의 I-125 ANP를 동량 첨가하여 다시 24시간 incubation하고, charcoal suspension을 이용하여 bound form과 free form을 분리하였다. Charcoal suspension은 renin assay 방법에 준하여 제조하였다.

6. Renin 활성도 측정을 위한 방사면역 측정법

Renin 활성도의 측정은 선행연구에 준하였다 (Cho & Kim, 1982; Cho et al, 1987).

혈중 inactive renin 활성도의 측정은 Barrett 등 (1981)의 방법을 참고로 변용하였다(Cho et al, 1989; Hwang et al, 1984). 즉, 혈장 50 ul에 20 mg/ml의 trypsin 5 ul를 가하여 잘 혼합하고 4°C에 6분간 노출시킨 후, 40 mg/ml의 SBTI 5 ul를 가하였다. Maleate buffer (1.5 M, pH 5.88)와 angiotensinase inhibitor mixture 50 ul (EDTA, 5 mM; PMSF, 3.75 mM; 8-hydroxyquinoline, 3.4 mM; neomycin 0.4%)를 넣어 37°C shaking water bath에 60분간 incubation하여 total renin의 활성도를 측정하였다. 혈중 active renin 활성도는 위에서 언급한 trypsin 5 ul와 SBTI 5 ul대신에 Tris-acetate buffer (0.1 M, pH 7.4, 0.5% BSA) 10 ul를 가하여 동일한 방법으로 incubation하여 처리한 후 active renin의 활성도를 측정하였다. Inactive renin의 활성도는 total renin의 활성도에서 active renin의 활성도를 감한 값으로 산출하였다.

7. 혈장 aldosterone 농도의 측정을 위한 방사면역측정법

혈중 aldosterone 농도는 Diagnostic Products Corporation (DPC)사의 solid-phase RIA kit를 사용하여 측정하였다.

8. 화학적 분석

채집한 요와 혈액내의 creatinine은 Phillips(1944)의 방법으로 발색시켜 spectrophotometry에 의하였고, Na와 K의 측정은 flame photometry에 의하였

다. Chloride는 digital chloridometer를 사용하였으며 osmolality는 freezing point depression 방법을 이용한 osmometer를 사용하였다.

9. 사용약물

사용한 약물중 trypsin, soybean trypsin inhibitor, I-ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl) carbodiimide hydrochloride, rabbit와 bovine serum albumin, phenylmethylsulfonylfluoride, neomycin, Trizma, phenylmercuric acetate, maleic acid, creatinine, para-aminohippuric acid, charcoal은 Sigma제를, atriopentin III는 Pharmacia제 및 Nova Biochem제를, glucose는 Fluka제를, Na I-125는 Amersham제를 사용하였다.

10. 통계적 처리

실험결과와 통계적 처리는 analysis of variance (ANOVA)와 modified Student's t-test에 의하였으며, p value가 최소 0.05 이하인 경우 유의한 차이의 한계로 삼았다. 실험치의 표현은 mean±SE로 하였다.

실 험 결 과

1. 연령에 따른 가토의 혈장 renin, aldosterone 및 ANP 농도의 변동

출생 1, 2, 3, 5, 24개월후 가토의 체중은 0.72 ± 0.06 , 1.25 ± 0.11 , 1.96 ± 0.04 , 2.77 ± 0.21 그리고 3.15 ± 0.17 kg으로 증가하며, 이에 따라 혈장 renin 활성도는 54.00 ± 10.40 , 39.95 ± 10.66 , 25.02 ± 2.34 , 24.94 ± 6.03 그리고 10.72 ± 3.36 ngAI/ml/hr로 감소하였다(Fig. 1). 혈장 aldosterone 농도는 0.26 ± 0.03 , 0.29 ± 0.05 , 0.39 ± 0.07 , 0.22 ± 0.06 그리고 0.27 ± 0.06 ng/ml로 연령에 관계없이 일정하였으며, 혈장 ANP 농도는 80.45 ± 9.26 , 71.28 ± 7.19 , 72.40 ± 11.01 , 77.40 ± 16.70 그리고 47.10 ± 6.77 pg/ml로 24개월된 가토에서 혈장 ANP 농도는 1개월, 5개월된 가토에 비해 현저히 감소하였다. 심방내 ANP 함량은 2, 3개월된 가토에서 우측 심방이 좌측 심방에 비해 낮았으나 1, 5, 24개월된 가토에서는 양심방간의 차이를 관찰할 수 없었다. 또한 나

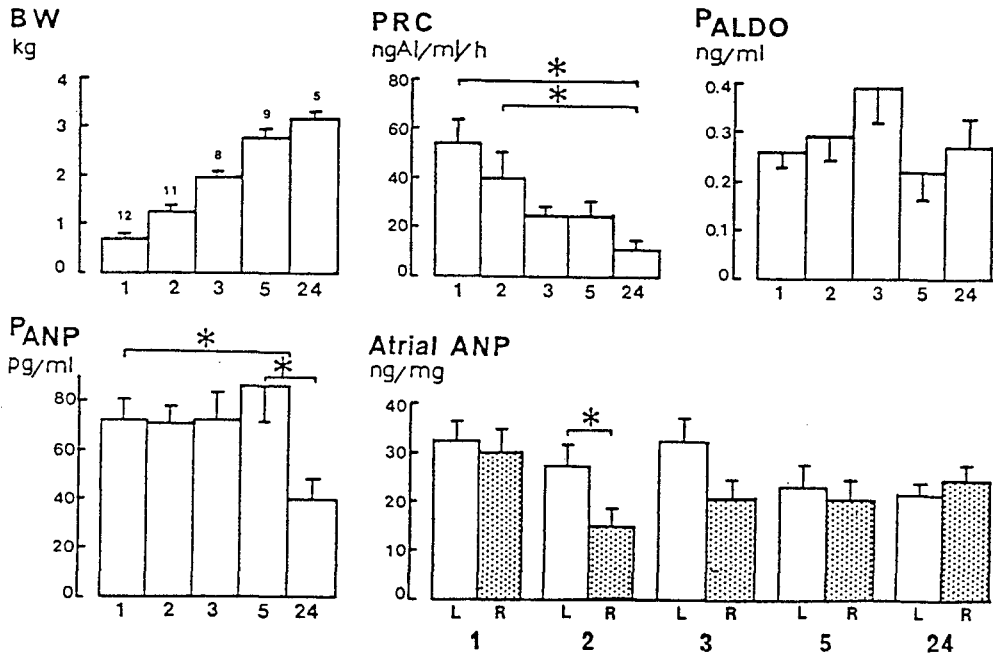


Fig. 1. Plasma renin, aldosterone concentrations, atrial and plasma atrial natriuretic peptide concentrations in different ages of conscious rabbits. BW, Body weight; PRC, plasma renin concentration; PALDD, plasma aldosterone concentration; PANP, atrial ANP, atrial natriuretic peptide, in plasma and atrium, respectively; 1 to 24, 1-24 month old rabbits; L, R, left and right atria, respectively. *, Significantly different from other group, $p < 0.05$.

이에 따라서 좌측 심방내 ANP 함량은 감소하는 경향을 보였으나 유의한 변동은 보이지 않았다. 가토의 연령과 혈장 renin 활성도는 역비례관계를 보였으나, 혈장 aldosterone, 혈장 및 심방내 ANP 함량의 변화는 나이와 유의한 상관관계를 보이지 않았다(Fig. 2). 또한 나이에 따른 ANP 농도의 변동은 혈장 renin 활성도 및 aldosterone의 변동과는 유의한 상관관계를 보이지 않았으며, 좌측 심방의 ANP 함량과는 유의한 상관관계를 보였다($y = 0.65x + 35.6$, $P < 0.01$) (Fig. 3).

2. Atrial natriuretic peptide에 의한 신장기능과 혈장 renin 및 aldosterone 농도의 변동

생후 1개월된 가토에서 정맥내로 ANP, 3 ug/kg 투여에 의해 혈장은 71.7 ± 2.3 에서 67.3 ± 1.8 mmHg로 유의하게 감소하였으며, 혈장 renin 활성도 역시 27.9 ± 5.7 에서 23.6 ± 4.18 ngAI/ml/hr로 감소하였다. 혈장 aldosterone 농도 역시 $0.47 \pm 0.$

11에서 0.33 ± 0.07 ng/ml로 감소하였다(Fig. 2). 그러나 ANP에 의한 요량, 사구체여과율 및 전해질배설량은 유의한 변화를 보이지 않았다(Fig. 5, 6).

생후 2개월된 가토에서 ANP에 의하여 혈장은 73.2 ± 2.7 에서 68.8 ± 2.5 mmHg로 유의하게 변화하였으며, 혈장 renin 활성도는 21.55 ± 5.74 에서 18.92 ± 5.30 ngAI/ml/hr로 감소하는 경향을 보였다. Aldosterone 농도는 0.48 ± 0.12 ng/ml에서 0.34 ± 0.10 ng/ml로 유의하게 감소하였다(Fig. 4). ANP 투여에 의해 요량은 69.0 ± 19.0 에서 96.0 ± 16.0 ul/min/kg으로 증가하는 경향을 보였으며, 사구체여과율은 3.34 ± 0.16 에서 4.57 ± 0.16 ml/min/kg으로 증가하였다(Fig. 4, 5). 요중 Na, Cl 및 K 배설량은 현저히 증가하였으며, Na 배설분획 역시 $0.59 \pm 0.19\%$ 에서 $0.99 \pm 0.31\%$ 로 증가하였다(Fig. 4, 5). 유리수분재흡수는 0.026 ± 0.015 에서 0.048 ± 0.015 ml/min/kg로 현저히 증가하였다(Fig. 4, 5).

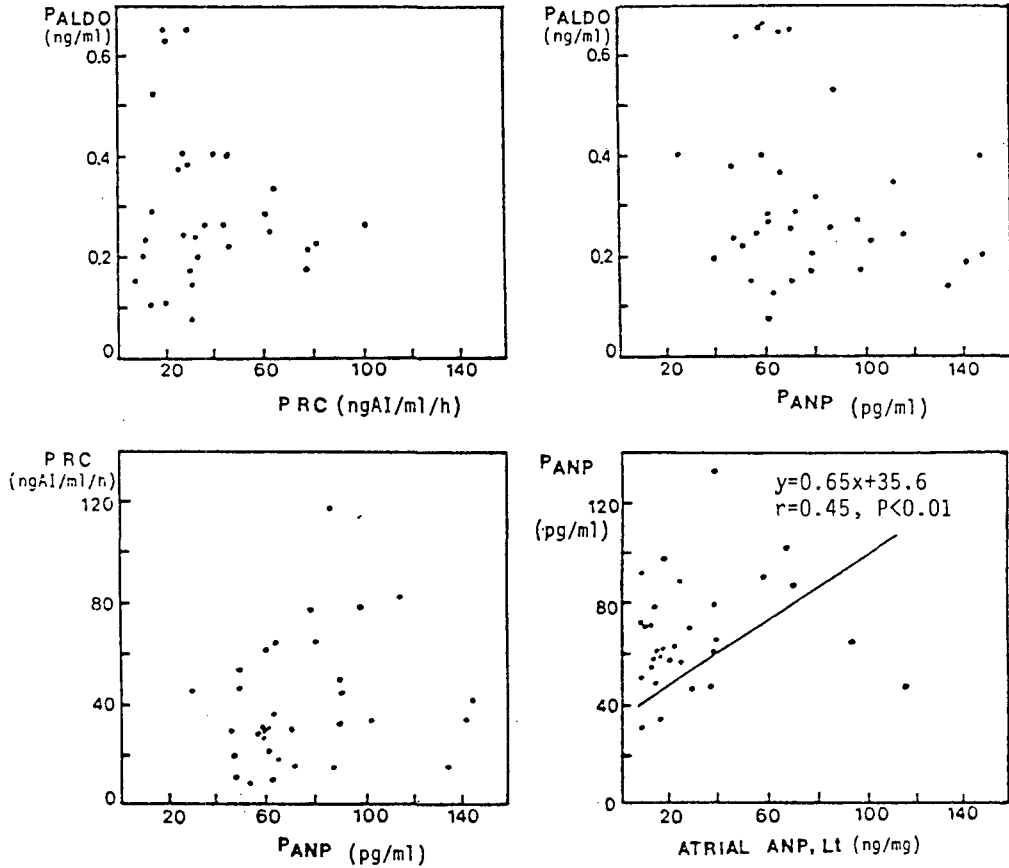


Fig. 2. Relationships between hormone concentrations and body weight in conscious rabbits. Other legends are the same as in Figure 1.

생후 3개월된 가토에서 ANP에 의해 혈압의 하강과 aldosterone의 감소를 관찰하였다(Fig. 4). ANP에 의해 요량은 48.0 ± 16.0 에서 87.0 ± 19.0 ul/min/kg으로, 사구체여과율 3.37 ± 0.19 에서 4.75 ± 0.40 ml/min/kg으로 현저히 증가하였다. 요중 Na, Cl 및 K 배설량 역시 2.86 ± 0.17 에서 6.14 ± 0.95 uEq/min/kg으로, 6.18 ± 0.19 에서 11.40 ± 1.46 uEq/min/kg으로, 그리고 4.20 ± 0.61 에서 5.67 ± 0.67 uEq/min/kg으로 증가하였다(Fig. 4, 5). 유리수분재흡수는 유의한 변화를 보이지 않았다.

생후 5개월된 가토에서 3 ug/kg의 ANP 투여에 의해 혈압 및 혈장 renin 활성도는 감소하는 경향만을 보였으나 aldosterone은 현저히 감소하였다(Fig. 4). ANP에 의해 요량은 35.0 ± 5.0 에서 61.0 ± 14.0 ul/min/kg으로 사구체여과율은 2.95 ± 0.27

에서 3.32 ± 0.30 ml/min/kg으로, Na 배설분획은 1.09 ± 0.25 에서 $1.90 \pm 0.26\%$ 으로 각각 증가하였으며, 유리수분재흡수는 0.085 ± 0.011 에서 0.086 ± 0.010 ml/min/kg으로 유의한 변화를 보이지 않았다(Fig. 5, 6).

생후 24개월된 가토에서 ANP 투여에 의해 혈압, 혈장 renin 활성도 및 aldosterone은 유의한 감소를 보이지 않았다(Fig. 4). 요량 및 사구체여과율은 각각 16.0 ± 1.00 에서 22.0 ± 5.0 ul/min/kg, 1.90 ± 0.11 에서 2.89 ± 0.88 ml/min/kg으로 증가하는 경향을 보였으나 유의하지는 않았다. Na 및 Cl 배설량 역시 2.02 ± 1.04 에서 4.26 ± 2.47 , 2.75 ± 0.97 에서 4.75 ± 2.29 uEq/min/kg으로 증가하는 경향만 보였다(Fig. 5, 6).

Figure 7에서 보는 바와 같이 ANP에 의한 혈압

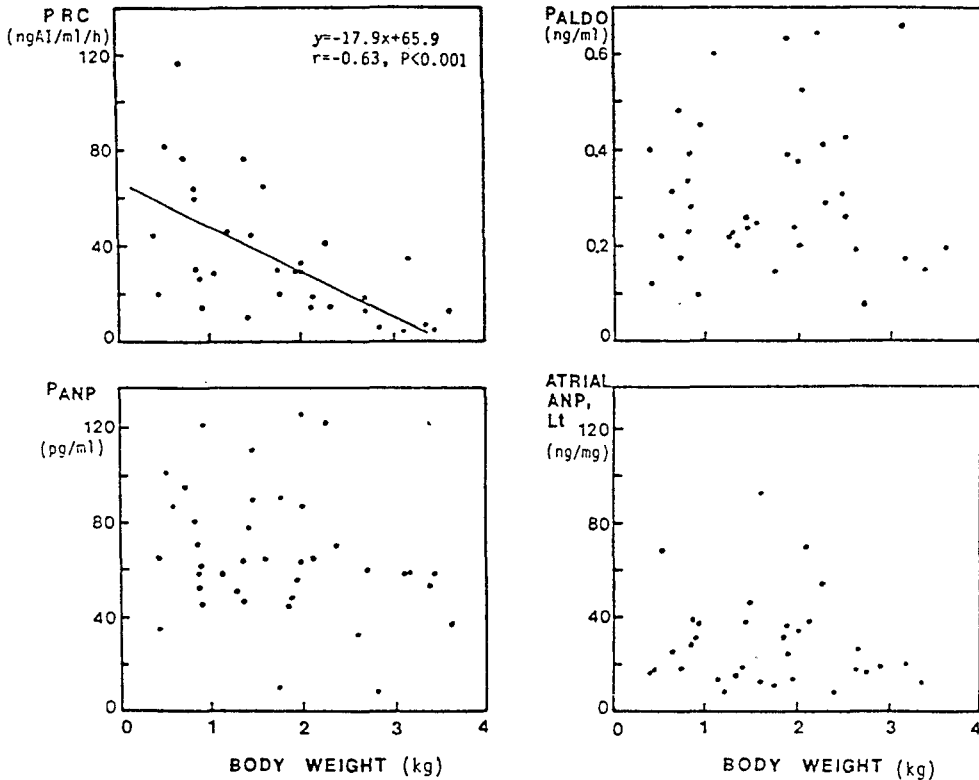


Fig. 3. Relationships between plasma renin, aldosterone and atrial natriuretic peptide concentrations. Other legends are the same as in Figure 1.

하강효과, 혈장 renin 활성도 및 aldosterone 농도 감소효과는 연령에 따라 낮아지는 경향을 보였으며 ANP에 의한 이뇨효과는 생후 1개월된 가토에서 볼 수 없었으며, 24개월된 가토에서는 2, 3, 5개월된 가토에 비해 매우 낮아 있었다(Fig. 8). 사구체여과율 및 전해질배설량의 증가효과는 역시 생후 1개월된 가토에서 볼 수 없었으며 Na의 배설분획의 증가도 볼 수 없었다(Fig 8).

3. Hydration에 의한 신장기능과 혈장 renin, aldosterone 및 ANP 농도의 변동

생후 1, 3, 그리고 24개월된 무마취가토의 정맥내에 15 ml/kg/hr의 속도로 생리적 식염수를 주입할 때 요량 및 사구체여과율은 유의한 변화를 보이지 않았다(Fig. 9). 생후 1개월된 가토에서 Na 배설량은 hydration전의 4.05 ± 1.65 에서 hydration 개시후 20~40 분후에 9.49 ± 3.51 uEq/min/kg으로 최고치

에 달했다. 요중 Cl 및 K 배설량도 Na의 배설량과 유사한 경향으로 증가하였다(Fig. 9, 10).

생후 3개월된 가토에서의 Na 배설량은 1.85 ± 0.47 uEq/min/kg에서 hydration 개시후 20~80분후에는 13.94 ± 3.66 uEq/min/kg으로 현저히 증가하였다(Fig. 9). 요중 Na, Cl 및 K 배설분획도 Na 배설량의 변화와 유사한 경향으로 변화하였으며, 유리수분재흡수도 이와 유사한 양상으로 증가하였다(Fig. 9, 10).

생후 24개월된 가토에서 hydration에 의한 신장기능의 변화는 생후 3개월된 가토에서와 유사한 양상을 보였다(Fig. 9, 10). 즉 요량 및 사구체여과율은 유의한 변화를 보이지 않았으며, Na 배설량은 0.27 ± 0.12 에서 hydration 개시후 20~40분후에 2.64 ± 1.58 uEq/min/kg으로 증가하여 최고치에 달하였다. Na 배설분획과 Cl 배설량 역시 유사한 양상으로 변화하였다.

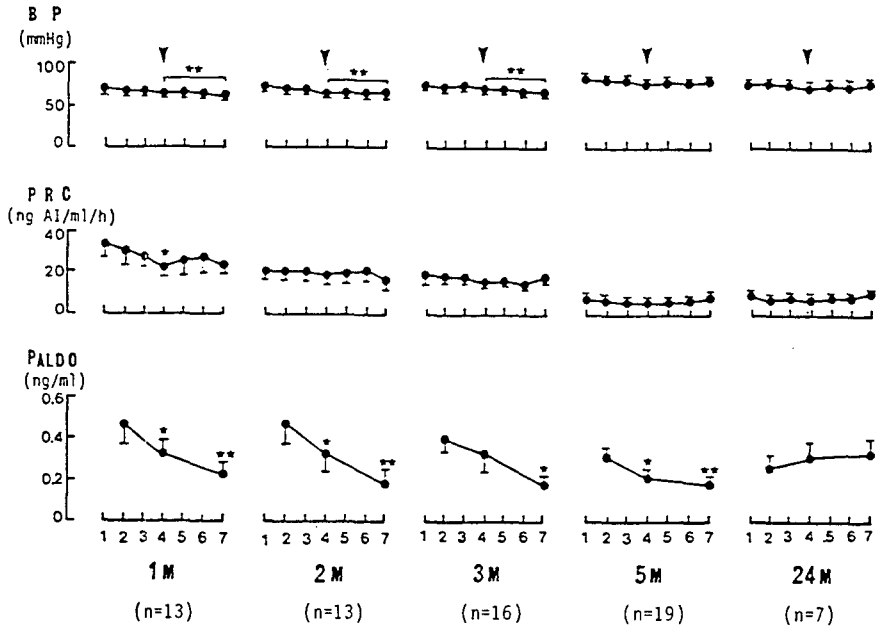


Fig. 4. Effects of atrial natriuretic peptide, 3 ug/kg, on the blood pressure, plasma renin and aldosterone concentrations in rabbits. 1-7, urine collection periods as 30 min interval; BP, blood pressure; PRC, plasma renin concentration; PALDO, plasma aldosterone concentration; 1-24 m, 1 to 24 month-old rabbits. Arrows indicate the injection time. Numbers in parenthesis are the number of experimental animals. *, Significantly different from control values, * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$.

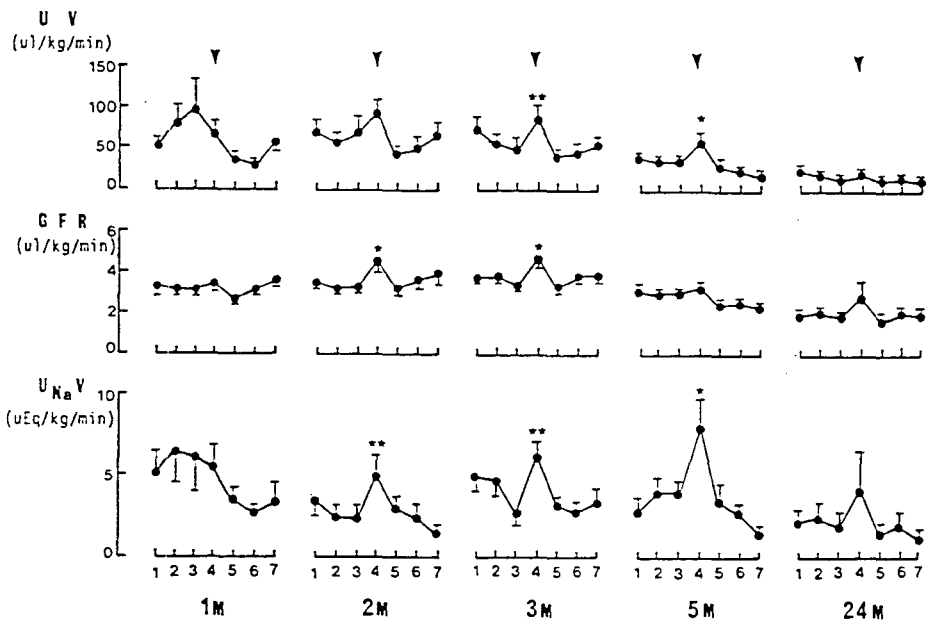


Fig. 5. Effect of atrial natriuretic peptide, 3 ug/kg, on urinary flow (UV), glomerular filtration rate (GFR) and the excreted amount of sodium (UNaV) in rabbits. Other legend are the same as in Figure 4.

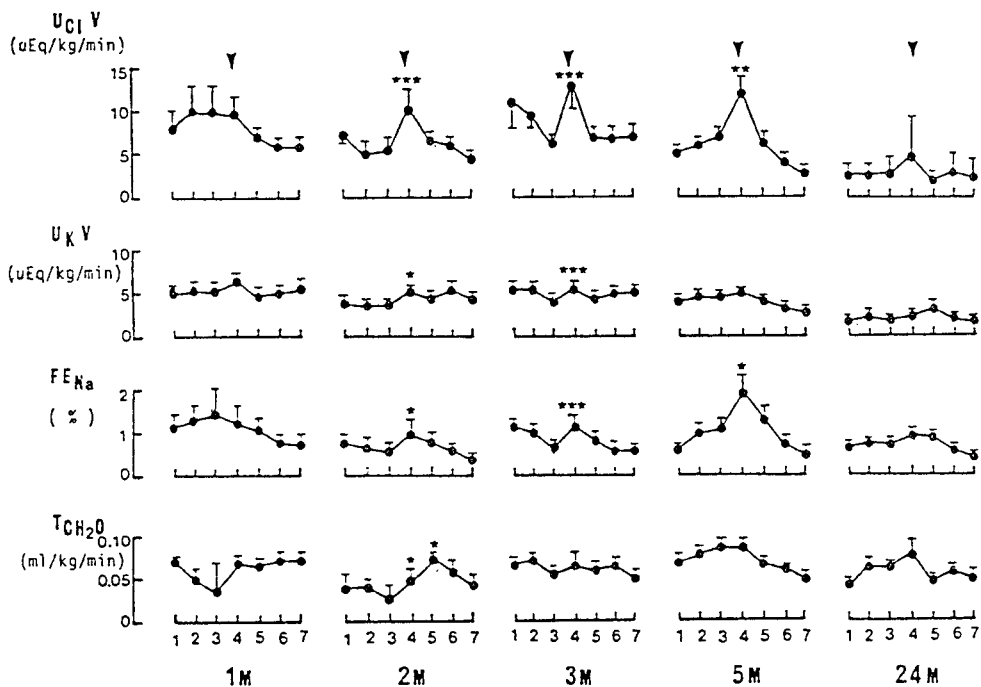


Fig. 6. Effects of atrial natriuretic peptide, 3 ug/kg, on the excreted amount of chloride (UCIV), potassium (UKV), fractional excretion of sodium (FENa), and free water reabsorption (TCH2O) in rabbits. Other legends are the same as in Figure 4.

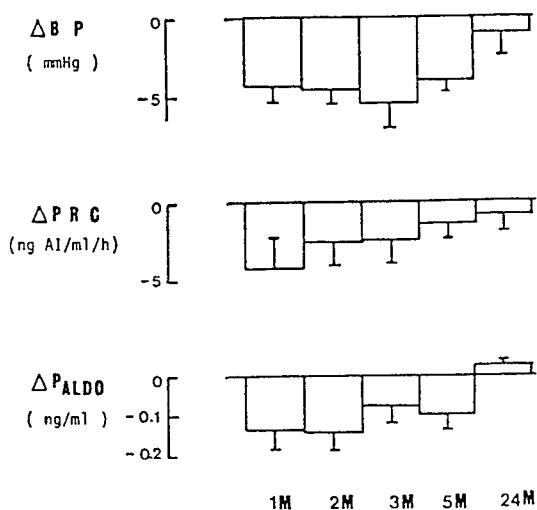


Fig. 7. Changes in blood pressure (BP), plasma renin (PRC) and aldosterone concentration (PALDO) by intravenous injection of atrial natriuretic peptide in rabbits. Values are calculated by subtracting the third period from the second period in Figure 4. Other legends are the same as in Figure 4.

생후 1개월된 가토에서 15 ml/kg/hr 속도로 2시간 hydration에 의해 혈장 active renin 활성도는 10.35 ± 1.94 에서 6.46 ± 1.48 ngAI/ml/hr로, inactive renin 활성도는 0.57 ± 0.38 에서 2.41 ± 0.93 ngAI/ml/hr로 유의하게 변화하였으며, 혈장 ANP 농도는 46.64 ± 7.16 에서 77.8 ± 11.49 pg/ml로 현저히 증가하였다. 그리고 aldosterone 농도는 0.40 ± 0.08 에서 0.20 ± 0.05 ng/ml로 현저히 감소하였다 (Table 2, Fig. 11). 생후 24개월된 가토에서 혈장 active 및 inactive renin 활성도는 생후 1, 3개월된 가토에서와 같이 유사한 양상으로 변화하였으나 통계적으로는 유의한 것은 아니었으며, hydration에 의해 현저한 혈장 ANP 농도의 증가와 aldosterone 분비의 감소를 관찰하였다 (Fig. 11).

Hydration 하기 전의 혈장 active renin 활성도는 inactive renin 활성도와 역비례 관계를 보였으며, 2시간 hydration 후에도 역비례관계를 보였으나 유의한 상관관계는 아니었다 (Fig. 12). Hydration 전후의 혈장 ANP 농도는 aldosterone이나 active renin

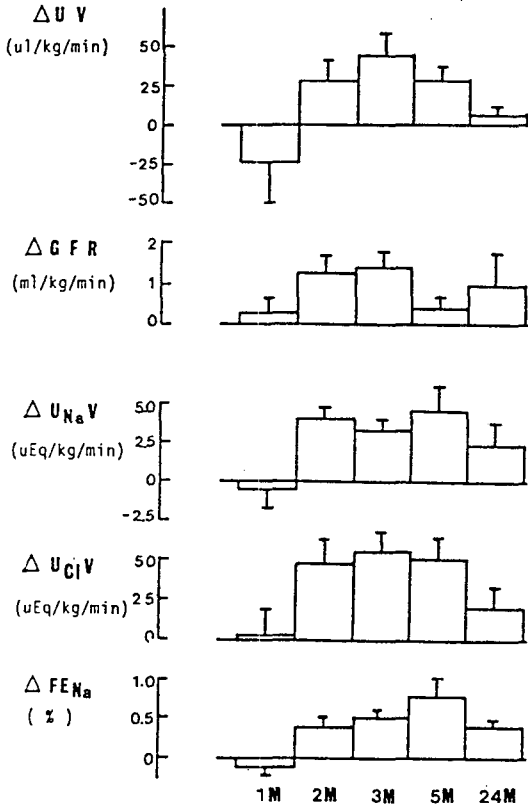


Fig. 8. Changes in urinary flow (UV), glomerular filtration rate (GFR), excreted amounts of sodium ($UNaV$), chloride ($UCIV$) and fractional excretion of sodium ($FENa$) by intravenous injection of atrial natriuretic peptide. Values are calculated by subtracting the third period from the second period in Figure 5 and 6. Other legends are the same as in Figure 4.

활성도와 유의한 상관관계를 발견할 수 없었다 (Fig. 13).

고 안

무마취 가토에서 연령이 증가함에 따라 혈장 renin 활성도가 감소한 본 실험결과는 정상 한국인에서 연령증가에 따라 renin 활성도의 감소를 관찰한 Cho 등 (1982)의 보고와 일치하였다. 혈장 aldosterone 농도는 유의한 변동을 보이지 않았으며, 혈장 renin 활성도와는 상관관계를 보이지 않았다. 이는 사람에서 혈장 renin 활성도와 aldosterone과의

정비례 관계를 관찰한 Weidman 등 (1975)의 보고와는 일치하지 않았다. 이는 아마도 정상 가토에서 나이에 따른 혈장 aldosterone 농도의 변화정도가 사람에 비해 크지 않기 때문인 것 같다. 혈장 ANP 농도는 생후 1개월에서 5개월까지는 큰 변화를 보이지 않았으나 24개월된 가토에서 현저히 감소하였으며 이러한 변화는 좌측 심방내의 ANP 함량과 상관관계를 보였다. Weil 등 (1986)은 생후 2~4일의 신생아에서 고농도의 혈장 ANP가 존재하나 생후 5일부터 성인에 이르기까지는 유의한 차이를 볼 수 없었고 보고하였다. 그러나 고령자에서 정상 성인의 4배 이상의 고농도의 혈장 ANP가 존재한다는 Ohashi 보고 (1987)와는 일치하지 않았다.

혈정 ANP 농도의 변화가 혈장 renin 활성도 및 aldosterone 농도의 변화와 유의한 역상관관계를 볼 수 없었던 본 실험결과는 고혈압 백서와 정상백서에서 역상관관계를 보았으나 각각의 백서군에서는 이러한 관계를 관찰할 수 없었던 Kim 등 (1988)의 보고와 일치하였다. ANP는 신장에서 renin 분비억제 (Burnett et al, 1984) 뿐 아니라 부신에서의 aldosterone 분비도억제 (Atarashi et al, 1984)한다고 알려져 있으나 자극을 가하지 않은 정상상태에서 이들의 역상관관계를 보여주는 보고는 많지 않다.

강력한 혈관이완을 일으키는 ANP 투여에 의한 혈압하강은 생후 1~5개월된 가토에서는 관찰할 수 있었으나 24개월된 가토에서는 발견할 수 없었다. Emmick와 Cohen (1986)은 연령이 다른 백서의 대동맥, 경동맥 및 간문맥 그리고 장간막 동맥에서 ANP 반응성을 비교한 결과 어린 백서의 ANP 반응성이 늙은 백서에 비해 크다고 보고하였으나 생체내 실험에서는 차이를 발견할 수 없었고 하였다.

Grimaldi 등 (1987)은 ANP에 의한 신기능효과는 4개월이나 24개월된 백서에서는 동일하나 혈압하강 효과는 늙은 백서에서 오랫동안 지속이 됨을 관찰하고 노령에 따라 심맥관계 조절에 변조가 온다는 것을 암시하였다. 혈관의 약물 반응성은 그 혈관의 종류, 동물의 나이 및 마취의 여부에 따라 좌우가 되며, 사용한 약물의 작용기전에 따라 상이하게 나타난다는 (Somlyo & Somlyo, 1970; Fleisch & Hooker, 1976) 사실로 미루어 보건데, ANP에 대한 혈압하강 효과 역시 연령에 따라 변화 될 수 있다는 것을 추측

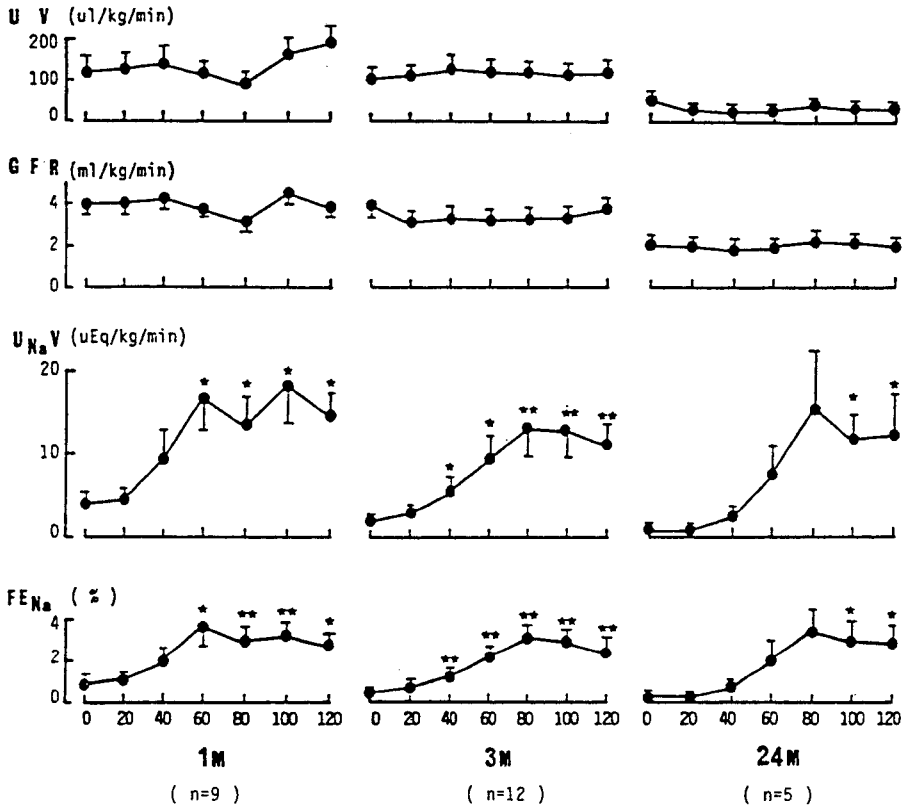


Fig. 9. Changes in renal functions by hydration of physiological saline at a rate of 15 ml/kg/h in rabbits. 0-120, time after start of hydration. Other legends are the same as in Figure 5.

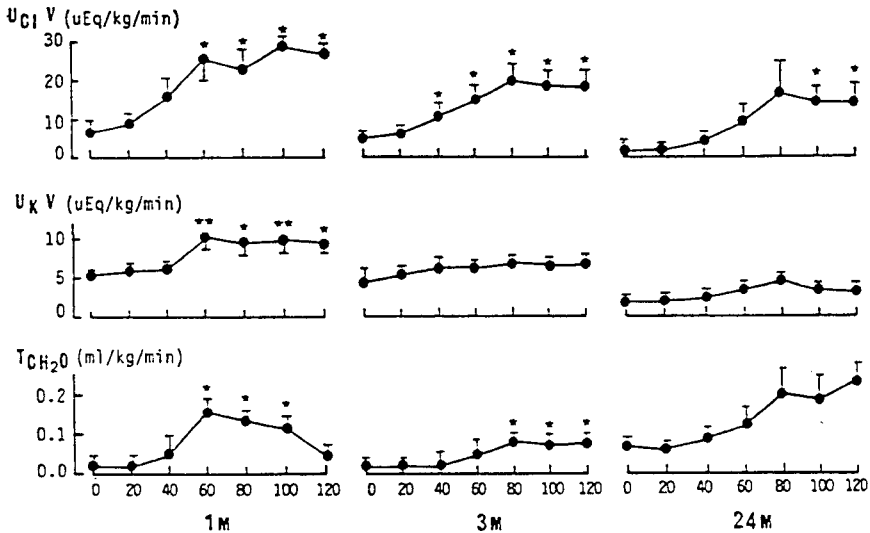


Fig. 10. Changes in renal functions by hydration of physiological saline at a rate of 15 ml/kg/h in rabbits. Other legends are the same as in Figure 6.

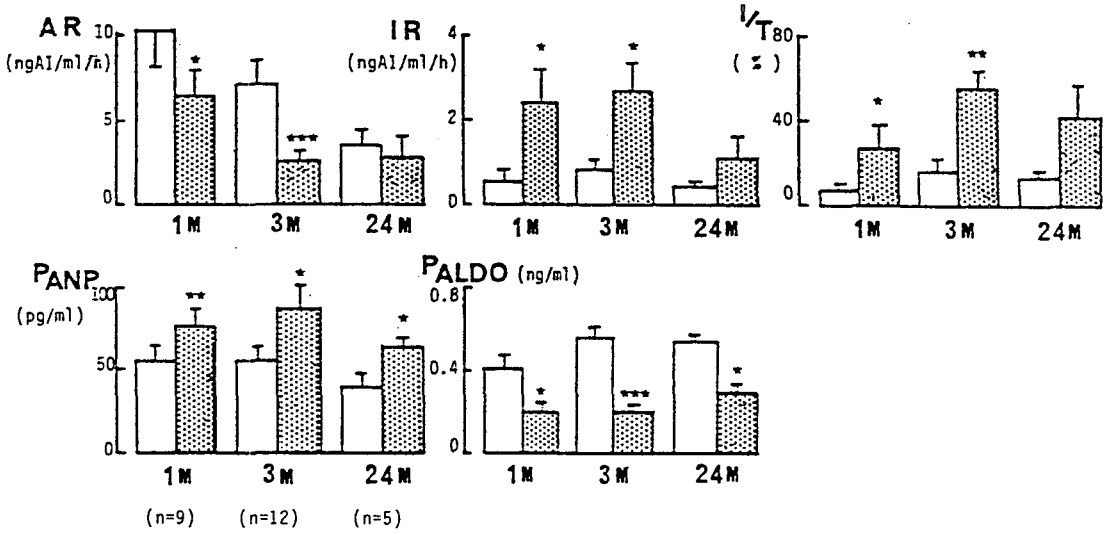


Fig. 11. Changes in plasma active (AR) and inactive renin (IR) activity, aldosterone (PALDD) and atrial natriuretic peptide (PANP) concentration before and after hydration in rabbits of different ages. Open bars indicate the values before hydration and hatched bars indicate the values after hydration. Other legends are the same as in Figure 4.

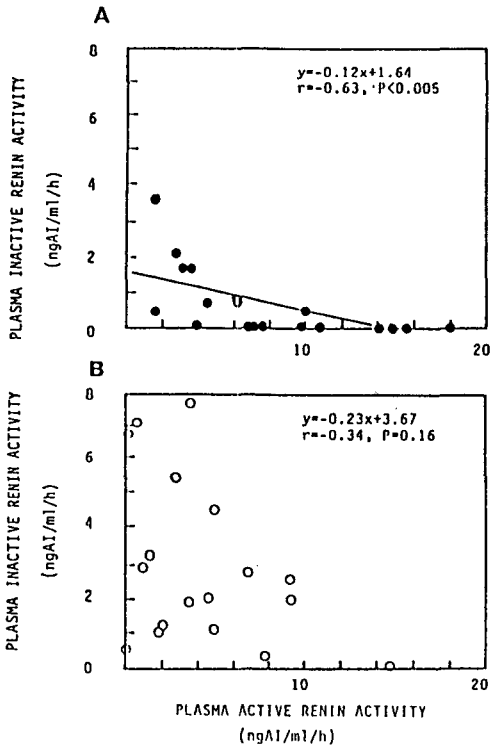


Fig. 12. Relationship between the plasma active and inactive renin activities in non-hydrated condition (A) and in hydrated condition (B)

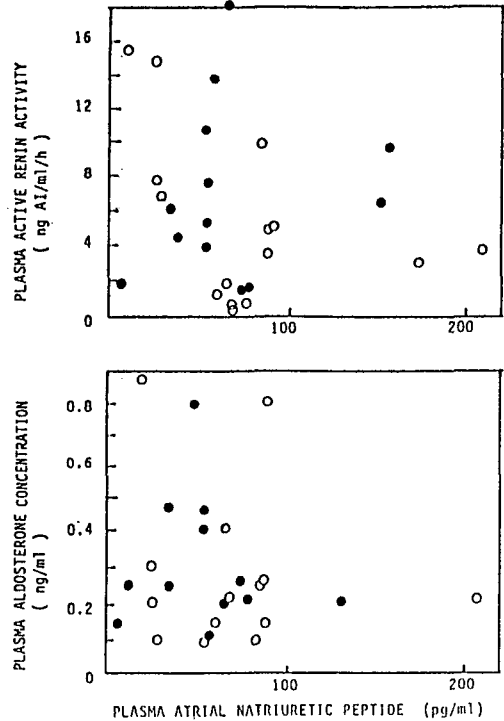


Fig. 13. Relationship between the plasma active renin activity, aldosterone and atrial natriuretic peptide concentration in non-hydrated condition (●) and hydrated condition (○)

할 수 있었다.

ANP에 의한 혈장 renin활성도의 변동은 연구자에 따라 상이한 보고가 있으나(Grimaldi et al, 1987; Richards et al, 1985; Beasley & Malvin, 1985) 생후 24개월된 가토에서 ANP투여에 의한 혈장 renin활성도의 감소를 관찰할 수 없었던 본 실험결과는 연령에 따라 ANP의 renin분비 반응성이 변조됨을 암시한다. Crane과 Harris(1976)는 식염제한과 체위 변동에 대한 혈장 renin활성도의 반응성이 나이가 들에 따라 약화된다고 보고하였다. ANP의 분비억제 기전은 혈류 역학적인 변화나 전해질 배설량의 변화에 의한것은 아닌 것 같으며(Grimaldi et al, 1987), ANP가 작용하는 세포막의 guanylate cyclase는 ANP의 binding site와 밀접하게 관련이 되어있음을 생각할때(Chinker et al, 1989), 노력에 따라 이들 상관관계에 어떤 변조가 이루어져 이러한 결과가 나타나리라고 추측된다.

ANP는 강력한 aldosterone 분비억제제로서(Atarashi et al, 1984) ACTH, angiotensin II 및 K에 의한 aldosterone 분비를 억제(Chatier & Schiffrin, 1986)한다고 한다. 3 ug/kg의 ANP를 정맥내 투여시 혈장 aldosterone 농도는 감소하였으나 생후 24개월된 가토에서는 이를 관찰할 수 없었다. 연령에 따라 ANP투여에 의한 aldosterone 농도는 감소하였으나 생후 24개월된 가토에서는 이를 관찰할 수 없었다. 연령에 따라 ANP 투여에 의한 aldosterone 농도 감소 반응성의 차이에 관해서는 아직 보고된 바 없다.

무마취 가토에서 ANP 투여에 의해 이뇨 및 Na 배설의 증가효과와 더불어 사구체여과율의 증가는 생후 1개월된 가토에서는 나타나지 않았으며, 생후 24개월된 가토에서는 매우 약화되어 있었다. 즉 생후 1개월된 체중 700g내의 어린 가토에서는 ANP의 투여에 의해 혈압은 하강하고 혈장 renin 및 aldosterone 농도는 감소하나, 이뇨 및 Na 배설효과는 전혀 관찰할 수 없었으며, 생후 2, 5개월이 되면서 혈압하강과 혈장 renin 및 aldosterone 농도의 감소뿐만 아니라 신기능 효과도 관찰할 수 있었다. 그러나 생후 24개월이 된 늙은 가토에서는 이러한 ANP효과는 매우 약화되어 있었다.

ANP는 태아때 이미 생성되기 시작하여 제대혈에

서도 측정이 되며(Yamaji et al, 1986), 어린아이에서 성인에 이르기까지 혈장 ANP 농도는 거의 비슷하므로(Weil et al, 1986) 어린 가토도 ANP receptor가 존재하는 것으로 기대된다. Roy(1986)는 90~115g내외의 백서에서 다량의 ANP 투여에 의해 사구체여과율의 감소와 함께 이뇨 및 Na 배설량의 증가를 관찰하였으며, 이러한 사구체여과율의 감소는 실험동물의 미성숙에 의한다고 하였다. 그러나 이때 혈압의 감소는 현저하지 않았다. 어린 가토에서 ANP의 신기능효과를 관찰할 수 없었던 본 실험과의 상이한 결과는 아마도 마취나, hydration의 여부, 그리고 실험동물의 차이에서 기인한 것으로 사료된다. 이처럼 ANP의 신기능 효과가 나이에 따라 상이한 것은 아마도 혈관 평활근에 있는 ANP 수용체가 먼저 발달되고 신장에 존재하는 ANP 수용체의 발달은 나중에 발달되는 것으로 추측된다.

Luft등(1980)은 나이가 들에 따라 사구체 및 신세뇨관의 기능이 점차로 감소하여 70세 이상이 되면 젊은 성인의 50%로 기능이 저하되며, 장기간의 Na 저류에 의한 고혈압의 가능성이 높게된다(Kaplan, 1978)고 보고하였다. 더우기 신장의 배설능력은 연령에 따라 차이가 나며 이외에도 인종, 성, 그리고 circadian rhythm에 의해 영향을 받는다고 한다(Kaplan, 1978). 이러한 신장기능의 감퇴에 대한 기전은 확실하지 않으나, 사구체여과율, 신혈류량, renin-angiotensin-aldosterone계, 그리고 다른 Na 조절 hormone계등이 이에 관여할 것이라 사료된다. 실험실에서 흔히 사용되는 가토는 특수한 목적을 제외하고는 대부분 생후 3~5개월된 것으로 ANP 효과가 관찰될 수 있으나, 점차로 노령에 따라 신장기능의 저하로 인한 ANP 반응성이 변하여 그 효과가 약화되는 것으로 생각된다. 일정량의 hydration 즉, '혈장량의 10%해당량을 15 ml/kg/hr 속도로 주입시 신장기능의 변화는 가토의 연령에 따른 유의한 차이를 발견할 수 없었으며, 혈장 renin, aldosterone 및 ANP농도의 변화 역시 유의한 차이를 발견할 수 없었다. Pettersson등(1986)은 백서에서 혈장량의 10%해당량의 생리적 식염수를 단시간에 투여하여 2.2배 이상의 ANP 증가를 관찰하였고 Salazar등(1986)은 다량의 식염수(혈액량의 62%)를 30분간에 걸쳐 주입하여 2.2배의 ANP 증가효과

를 보고하였다. 이는 혈관내 용적의 증가가 중요한 ANP의 자극이기는 하나 그 용적의 확장속도 또한 매우 중요한 요인임을 암시하였다. 즉 본 실험에서는 혈액량의 10%에 해당되는 량을 2시간에 걸쳐 서서히 주입하여 약 1.5배 정도의 ANP 증가를 관찰하였다. 또한 hydration에 의한 혈장 aldosterone의 감소, active renin의 감소는 Salazar등(1986)의 보고와 일치하였다. 혈장 active renin의 활성도는 inactive renin의 활성도에 반비례하였으며 이는 furosemide 투여에 의한 active renin 활성도 증가시 inactive renin 활성도의 감소를 관찰한 Kim 등(1987)의 보고와 일치하였다.

결 론

무마취 가토에서 연령에 따른 혈장 renin, aldosterone 및 심방 ANP 농도를 측정함과 동시에 연령에 따라 ANP 투여에 의한 혈압, 혈장 aldosterone 및 renin 활성도의 변화와 신장 기능의 변화등을 관찰하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

1) 생후 1개월에서 24개월로 노령에 따라 혈장 renin 활성도는 감소하였고, 혈장 aldosterone 및 심방 ANP 함량은 유의한 변화를 보이지 않았다. 그러나 혈장 ANP는 생후 24개월된 가토에서 현저히 낮아 있었다.

2) ANP, 3 ug/kg을 정맥내 투여시 생후 1개월된 가토에서는 혈압하강과 혈장 renin 및 aldosterone 농도의 감소를 관찰할 수 있었으나 신기능 효과는 나타나지 않았다. 생후 2~5개월된 가토에서는 ANP에 의한 혈압하강, 혈장 renin 및 aldosterone 농도의 감소, 그리고 신기능 효과를 관찰할 수 있었으나 생후 24개월된 가토에서는 이러한 작용들이 모두 약화되어 있었다.

3) 일정량의 hydration(총 혈액량의 10%)에 의한 가토의 신기능 변동은 가토 연령에 따른 차이를 반결할 수 없었다. 이때 혈장 ANP 농도는 현저히 증가하였고, aldosterone 농도 및 active renin 활성도는 감소하였으며 inactive renin 활성도는 유의하게 증가하였다.

이상의 결과로 ANP에 대한 혈관 반응성은 신기능 반응성에 비해 먼저 발달되고 연령 증가에 따라

이들 반응성은 약화가 되어 감을 알수 있었다.

REFERENCES

Atarashi K, Mulrow PJ, Franoco-Saenz R, Snajdan R & Rapp J (1984). Inhibition of aldosterone production by an atrial extract. *Science* 224, 992-994

Baines AD, De Bold AJ & Sonnenberg H (1983). Natriuretic effect of atrial extract on isolated perfused rat kidney. *Can J Physiol Pharmacol* 61, 1462-1466

Barrett JD, Eggena P, Krall JF & Sambhi MP (1981). A comparison of physical characteristics of active renin isolated from aorta, plasma and kidney of the rat. *Clin Sci* 61, 651-678

Beasley D & Malvin RI (1985). Atrial extract increase glomerular filtration rate in vivo. *Am J Physiol* 248, F24-F30

Burnett JC, Granger JP Jr & Opgenorth TJ (1984). Effect of synthetic atrial natriuretic factor on renal function and renin release. *Am J Physiol* 247, F863-F866

Burnett JC, Kao PC, Hu DC, Hese DW, Heublein D, Granger JP, Opgenorth TJ & Reder GS (1986). Atrial natriuretic peptide elevation in congestive heart failure in the human. *Sci* 231, 1145-1147

Chatier L & Schiffrin EL (1986). Atrial natriuretic peptide inhibits the stimulation of aldosterone secretion by ACTH in vitro and in vivo. *Proc Soc Exp Biol Med* 182, 132-136

Chinkers M, Garbers DL, Chang MS, Lowe DG, Chin H, Goeddel DV & Schulz (1989). A membrane form of guanylate cyclase is an atrial natriuretic peptide receptor. *Nature* 338, 78-83

Cho KW, Kim SH, Kang SK & Choi HY (1982). Influence of aging on plasma renin activity. *Kor J Nucl Med* 16(2), 91-96 (in Korean)

Cho KW & Kim SH (1982). Factors affecting the relationship between renal renin activity and plasma renin activity. *Kor J Physiol* 16, 63-68 (in Korean)

Cho KW, Kim SH & Koh GY (1987). Radioimmunoassay and characterization of renin-angiotensin system in the fresh-water turtle. *J Exp Zool* 242, 25-262

Cho KW, Seul KH, Kim SH, Ryu H & Koh GY (1988 a). Epicardial release of immunoreactive atrial natriuretic peptides in inside-out perfused rabbit atria. *Biochem Biophys Res Commun* 153, 811-817

- Cho KW, Kim SH, Koh GY & Seul KH (1988 b). Renal and hormonal responses to atrial natriuretic peptide and turtle atrial extract in the freshwater turtle, *Amyda japonica*. *J Exp Zool* 247, 139-145
- Cho KW, Kim SH, Koh GY, Seul KH, Huh KS, Chu D, Rapp NS, Moon HB, Kim KK & Kook YJ (1989). Plasma concentration of atrial natriuretic peptide in different phases of Korean hemorrhagic fever. *Nephron* 51, 215-219
- Crane MG & Harris JJ (1979). Effect of aging on renin activity and aldosterone excretion. *J Lab Clin Med* 87(6), 947-959
- 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, 98-94
- De Bold AJ (1979). Heart atria granularity effects of changes in water electrolytes balance. *Proc Soc Exp Biol Med* 161, 509-511
- Emmick JT & Cohen ML (1986). Aging and vasodilation to atrial peptides. *Clin Exper Ther Practice A*(8), 75-90
- Fleisch JH & Hooker CS (1986). The relationship between ages and relaxation of vascular smooth muscle in the rabbit and rat. *Circ Res* 38(4), 243-249
- 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
- Grimaldi R, Zini I, Agnati LF, Fuxe K & Harfstrand (1987). Intravenous administration of atriopeptin III affects arterial blood pressure differentially in young and old male rats. *Acta Physiol Scand* 129, 525-528
- Hasegawa K, Matsushita Y, Inoue T, Mori H, Isibasi M & Yamaji T (1986). Plasma levels of atrial natriuretic peptide in patients with chronic renal failure. *J Clin Endocrinol Metab* 36, 819-822
- Henry JP, Gauer OH & Reves JL (1956). Evidence of the atrial location of receptors influencing urine flow. *Circ Res* 4, 85-90
- Hwang PH, Park WK, Lee HS, Kim JS & Cho KW (1984). Changes of plasma inactive renin in newborn infants and children. *J Kor Ped Assoc* 27(9), 36-40 (in Korean)
- Jamieson JD & Palade GE (1964). Specific granules in atrial muscle. *J Cell Biol* 23, 151-172
- Januszewicz P, Gutkowska J, Thibault G, Garcia R, Mecure C, Jolicoeur F, Genest J & Cantin M (1986). Dehydration-induced changes in the secretion of atrial natriuretic factor in Brattleboro rats. *Neurosci Lett* 67, 203-207
- Kaplan NM (1978). *Clinical hypertension*. Baltimore, Maryland, Williams and Wilkins Co.
- Keeler R & Azzarolo AM (1983). Effects of atrial natriuretic factor on renal handling of water and electrolytes in rats. *Can J Physiol Pharmacol* 61, 996-102
- Kim JH (1987). characteristics of renin secretion in rabbits. *Jeonbuk Nat Univ Grad Sch Doctoral thesis* (in Korean)
- Kim SH, Kim SH, Seul KW & Cho KW (1988). Effects of atrial natriuretic peptide on renal and endocrine functions in spontaneously hypertensive rats. *Kor J Physiol* 22, 41-53 (in Korean)
- Kisch B (1956). Electron microscopy of the atrium of the heart. 1. Guinea pig. *Exp Med Surg* 14, 99-112
- Lee JK & Cho KW (1986). Effect of atrial natriuretic factor on the renal function and renin release in unanesthetized rabbit. *Kor J Physiol* 20(1), 103-124 (in Korean)
- Luft CF, Fineberg NS, Miler JE, Rakin LI, Grim CE & Weiberge MH (1980). The effects of age, race and heredity on glomerular filtration rate following volume-expansion and contraction in normal man. *Am J Med Sci* 279, 15-24
- Maack T, Marion DN, Camargo MJF, Kleinert HD, Laragh JH, Vaughan ED Jr & Atlas SA (1984). Effect of auriculin (atrial natriuretic factor) on blood pressure, renal function, and the renin-aldosterone system in dogs. *Am J Med*, 7, 1069-1075
- Maack T, Camargo MJF, Kleinert HD, Laragh JH & Atlas SA (1985). Atrial natriuretic factor: Structure and functional properties. *Kidney Int* 27, 607-615
- Ohashi M, Fujio N, Nawata H, Kato KI, Ibayashi H, Kanagawa K & Matsuo H (1987). High plasma concentrations of human atrial natriuretic polypeptide in age men. *J Clin Endo Metab* 64, 81-85
- Palluk R, Gaida W & Hoeflke (1985). Atrial natriuretic factor. *Life Sci* 36, 1415-1525
- Petersson A, Hedner J, Ricksten SE, Towle AC & Hedner T (1986). Acute volume expansion as a physiological stimulus for the release of natriuretic

- peptides in the rat. *Life Sci* 38, 1127-1133
- Phillips RA (1944). In, *Quantitative Clinical Chemistry, vol 2, methods, edited by J.P. Peter and D.D. Vanslyke, Williams and Wilkins*
- Richards AM, Inkran H, Pandle TG, Nicholls MG, Webster MWI & Espiner (1985). Renal, haemodynamic and homonal effects of human alpha atrial natriuretic peptide in healthy volunteers. *Lancet* 8428, 545-548
- Roy RD (1986). Effect of synthetic atrial natriuretic peptide on renal and loop of Henle functions in the young rat. *Am J Physiol* 251(20), F220-F225.
- Salazar FJ, Romero JC, Burnett JC Jr, Schryver S & Granger JP (1986). Atrial natriuretic peptide levels during acute and chronic saline loading in conscious dogs. *Am J Physiol* 251(20), R499-R503
- Schiffrin EL, Gutkowska J, Kuchel O, Cantin M & Genest J (1985). Plasma concentration of atrial natriuretic factor in a patient with paroxysmal atrial tachycardia. *N Eng J Med* 312, 1196-1197
- Seymour AA, Beaine EH, Mazack EK, Smith SG, Stabilito II, Haley AB, Napier MA, Whinnery MA & Nutt RF (1985). Renal and systemic effects of synthetic atrial factor. *Life Sci* 36, 33-44
- Somlyo AP & Somlyo AV (1970) Vascular smooth muscle. *Pharmacol Rev* 20, 197-272
- Sugawara A, Nakao K, Sakamoto M, Mori N, Yamada T, Itoh H, Shiono S & Imura H (1985). Plasma concentration of atrial natriuretic polypeptide in essential hypertension. *Lace* 2, 1426-1427
- Weidman P, De Myttenaere-Bursztem S, Maxwell MH & De Lima J (1975). Effect of aging on plasma renin and aldosterone in normal man. *Kid Int* 8, 325-333
- Weil J, Bidlingmaier F, Dohleman C, Kuhnle U, Strom T & Lan RE (1986) Comparison of plasma atrial natriuretic peptide levels in healthy children from birth to adolescence and in children with cardiac diseases. *Ped Res* 20, 1328-1331
- Yamaji T, Hirai N, Ishibashi M, Takaku F, Yanaihara T & Nakayama T (1986). Atrial natriuretic peptide in umbilical cord blood: Evidence for circulating hormone in human fetus. *J Clin Endo Meta* 63(6), 1414-1417