

T.C.
Marmara Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü

ATRIAL EKSTRAKTIN TÜR SPESİFİK ÖZELLİĞİ VE TUZ TÜKETİMİ İLE ARASINDAKİ İLİŞKİ

T. C.
Yükseköğretim Kurulu
Dokümantasyon Merkezi

(Doktora Tezi)

Fatma YENER

Marmara Üniversitesi
Atatürk Eğitim Fakültesi Araştırma Görevlisi

Tez Danışmanı : Prof. Dr. Neyhan ERGENE

Istanbul - 1990

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
1. GİRİŞ	1
2. LİTERATÜR BİLGİSİ	2
3. MATERYAL VE METOD	19
3.1. Materyal	19
3.1.1. Deney Hayvanları	19
3.1.2. Deney Grupları	19
3.1.3. Deneylerde Kullanılan Alet ve Malzemeler	20
3.1.3.1. Deneme Odası	20
3.1.3.2. Metabolik Kafesler	20
3.1.3.3. Analitik Çalışmalarda Kullanılan Malzemeler	20
3.2. Deneylerde Kullanılan Metodlar	21
3.2.1. Atrial Ekstraktın Hazırlanması	21
3.2.2. Atrial Ekstraktın Hayvanlara Verilmesi	22
3.2.3. Na ⁺ - K ⁺ Tayini	22
3.2.4. Osmolalite Tayini	23
3.2.5. İstatistik Analizler	23
4. BULGULAR	25
5. TARTIŞMA	35
6. ÖZET	41
7. SUMMARY	42
8. LİTERATÜR LİSTESİ	43
9. TEŞEKKÜR	

GİRİŞ

Memelilerin atrial kardiositleri peptid hormon sentezleyen hücrelere benzeyen spesifik atrial granüller olarak tanımlanan depo granülleri içermektedir ve atrial myokard hücrelerinin membranına bağlı olarak bulunmaktadır (26). Granüller ilk kez 1956 yılında Kisch (13) tarafından kobay atriumunda gözlenmiş daha sonra çeşitli türlerin atriumunda da olduğu tesbit edilmiştir. Bu atrial granüller Atrial Natriuretik Faktör (ANF) olarak adlandırılan aktif biyolojik peptidler içermektedir (121). Son zamanlarda bu peptidler araştırmacılar tarafından saflaştırılmış, sentezlenmiş ve sekuanslanmıştır (47,121,122).

ANF pek çok dokuda siklik guanilat monofosfat (cGMP) birikimine neden olmaktadır. cGMP, ANF'nin faaliyetinde ikinci haberci olarak görev yaptığı ileri sürülmektedir. ANF'nin düz kastaki gevşetici etkisi guanil siklaz aktivasyonu sonucu hücre içi cGMP seviyelerindeki artışla ortaya çıkmaktadır (42,86).

Bu peptidlerin morfolojik, biyokimyasal ve farmakolojik özelliklerinin tesbit edilmesine rağmen halâ pek çok özelliği henüz bilinmemektedir. Bir çok araştırmacı bu peptidlerin su-elektrolit dengesi ve ekstraseküller sıvı volümünün düzenlenmesinde rol oynadığı fikrindedir. ANF tubuler sodyum transportunun bir inhibitörü olarak toplama kanallarında sodyum reabsorpsiyonunu inhibe ederek sodyum atılımını arttırır (82).

Bu çalışmada koyunlardan ve sıçanlardan elde edilen atrial ekstraktların sıçanlara intravenöz enjeksiyonundan sonra sodyum-potasyum ve osmolaliteye etkileri, ayrıca bu etkinin tür spesifik olup olmadığının tesbit edilmesi amaçlanmıştır.

LİTERATÜR BİLGİ

Organik bileşiklerin yanında organizmanın daha az miktarda da olsa inorganik bileşiklere de gereksinimi vardır. Vücut sıvıları içinde elektiriksel nötralitenin sağlanması her sıvı bölmesindeki katyon ve anyonların eşit iyonik dengede olmasına bağlıdır. Ayrıca inorganik maddeler kanın osmotik basıncının ayarlanmasında, bazı enzimlerin yapılarına katılmada katalizör olarak etkimede ve kas kontraksiyonu ile sinirsel iletimde önemli roller oynarlar (51).

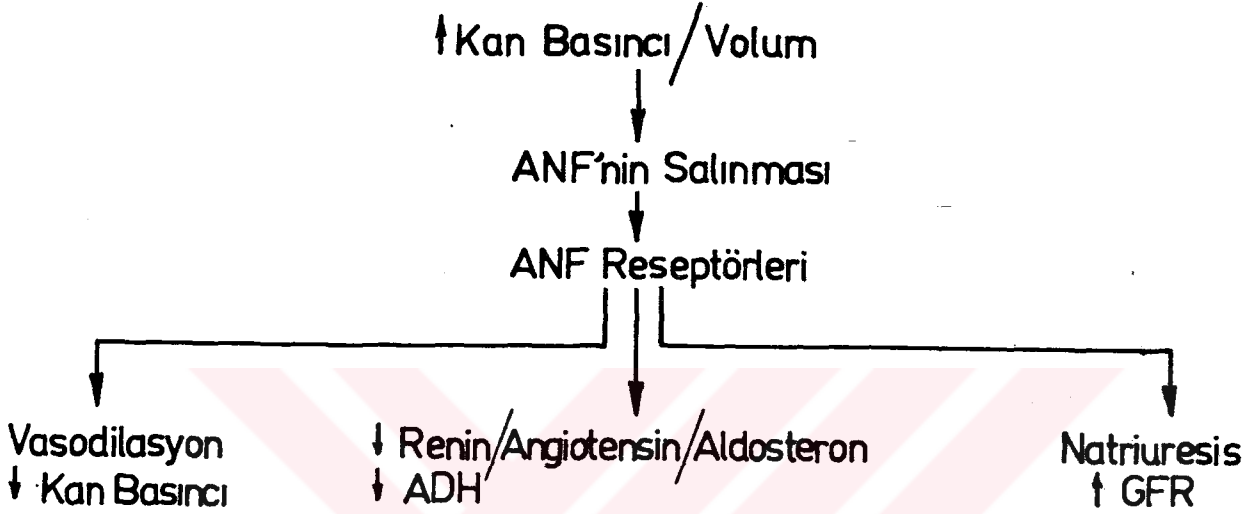
Minerallerden eksik beslenme durumunda, elektrolit atılımı sürekli olduğundan belirli bir süre sonra önemli bozukluklar ortaya çıkabilir. Vücut sıvılarının osmokonsantrasyonlarını içlerindeki iyonlar oluşturur. Ekstraselluler sıvının hemen hemen tüm osmokonsantrasyonu sodyum, klor ve bikorbanot iyonlarından, intraselluler sıvınıniki ise potasyum-magnezyum ve organik maddelerden teşekkül etmektedir (36, 135).

Sodyum ekstraselluler sıvının ana katyonu, iskeletin de ana minerallerinden birisidir. ekstraselluler sıvılardaki sodyum dengesi, sodyum alış ve atılışı arasındaki dengenin düzenli olması ile sağlanır. Böbreklerden sodyum atılım işlemi önce glomeruluslarda plazma sodyumunun süzülmesini, sonra tubullerde bu filtre edilen sodyumun büyük bir kısmının geri emilimini kapsar. Filtre edilen miktar ile geri emilen miktar arasındaki fark böbreklerden atılan sodyum miktarını verir. Yaklaşık olarak her gün glomeruluslardan 25.000 mM sodyum filtre edilir ve renal tubuller içine alınır. Bu filtre edilenin %99'dan fazlası tubullerden geri emilir. Günlük atılan sodyum miktarı 100-200 mM kadardır. Sodyum önce tübüler hücre sitoplazmasına pasif geçer. Sonra interselluler aralığa aktif olarak çıkarılır ve oradan plazmaya döner (6). Sodyum atılımındaki değişiklikler iki yolla etkilenir; ilk olarak plazma sodyum veya glomerular filtrasyon oranının aniden artması sonucu tubullere filtre edilen sodyum miktarı artar. Ancak tubullerden geri emilim kısa bir zamanda aynı oranda artmayacağından filtre edilen ve geri emilen Na^+ miktarları arasındaki fark büyük

olur ve dolayısıyla idrarla daha fazla Na^+ atılır. İkinci olarak plazma Na^+ miktarının artışı adrenal korteksten aldosteron salgılanmasını inhibe eder, böbrek tubüllerinden Na^+ geri Emilimi azalır ve dolayısıyla Na^+ atılımı artar (6).

Renin-angiotensin, aldosteron hormonal sistemi Na^+ tutulması ve Na^+ - K^+ homeostasisi ve kan basıncının düzenleyicisidir (63,64,70). Son zamanlarda bu sistem üzerine Atrial Natriuretik Faktör (ANF) olarak adlandırılan peptid yapısında bir hormonun etkili olduğu belirtilmektedir. ANF renin-angiotensin-aldosteron sisteminde inhibitör bir etkiye sahiptir (67, 94). Bu sistemde en önemli faktör renin enzimidir. Renin β adrenerjik reseptörler ya da juxtaglomerular PGI (Prostaglandin I) reseptörlerinin aktivasyonu sonucu juxtaglomerular hücreler tarafından kana verilir. Renin ve aldosteronun salınması besinlerle alınan Na^+ içeriğinin değişmesine Paralellik göstermektedir (29,76). Ayrıca böbreklerdeki arteriyel basıncın düşmesi de benzer şekilde renin salgılanmasına neden olur. Renin kan dolaşımına geçerek orada angiotensinojen üzerine etkiyerek angiotensin I'i oluşturur. Enzimatik reaksiyonlarla angiotensin I, angiotensin II haline çevrilir. Bu küçük peptid adrenal korteksten aldosteron salgılanmasına neden olur ve onun etkisiyle böbreklerden Na^+ atılımı azalır. Aynı zamanda vaskular düz kaslarda konstriktör bir etkiye de sahiptir. Angiotensin II negatif feedback bir etki ile kısmen juxtaglomerular hücrelerden renin salınmasını, kısmen de adrenal bezden aldosteron salınmasını önler ve dolayısıyla böbreklerden Na^+ ve su geri Emilimini inhibe eder. Böbreklerden Na^+ atılımını (natriuresis) arttıran bir diğer faktör de ANF'dir. ANF renin, angiotensin ve aldosteron salınmasını engelleyerek Na^+ geri Emilimini, ADH'nın salınmasını engelleyerek de su geri Emilimini inhibe eder (Şekil 1).

Ekstrosellular sıvılarda volüm-osmokonsantrasyon ilişkisi susuzluk ADH ile tuz açlığı-aldosteron sistemiyle beraber düzenlenir. Bu iki sistem çoğunlukla beraber çalışır.



ŞEKİL 1 : ANF'nin aksiyonu ve fizyolojik düzenlemesi (18).

ADH : Antidiüretik hormon,

GFR : Glomerular filtrasyon oranı.

Memeli kalbinin ventriküler ve atrial kasında şekillenen kas hücrelerinin birçoğu fonksiyonel olarak farklılaşmıştır. Morfolojik olarak çoğunlukla kontraktıl elementleri içerirler. Kardiyositlerin tamamı bu morfolojik farklılaşmayı eşit derecede paylaşmaz. Atrium ve ventriküller fibröz bağ dokusu ile ayrılmıştır. Morfolojik olarak sinoatrial nodülde primitif fibriller dikkate değer şekilde çoktur. Bu fibriller kalpte elektiriksel olayların kaynağıdır ve kardiyak Peysmeyker (uyarı üreticiler)'dir. Memeli kalbinin kardiyositleri uyarılma, kasılma ve iletme üzere üç farklı özellik göstermektedir. Bu özellikler kalp çalışmasında önemli rol oynar (27).

Son yıllarda elektron mikroskop çalışmalarının da yardımıyla atrial ve ventriküler kardiositlerin morfolojik olarak farklılığı atrial kardiositlerin ventriküler kardiositlere benzemediği gözlenmiştir (118). Bu incelemelere göre atrial kardiositlerin membranına bağlı olarak 250 - 500 nm. büyüklüğünde depo granülleri içerdiği belirlenmiştir. Bu granüller atrial kardiositlerin sarkoplazmasında nukleus çevresinde yoğunlaşmıştır (81). Bununla beraber memeli olmayan sürüngenler, amfibiler, kuşlar, kemikli ve kıkırdaklı balıklarda omurgalılardaki atrial kardiositler gibi ventrikülerlerin de granüler yapıya sahip olduğu gözlenmiştir (34). Hayvan türleri arasında ANF miktarının da farklılık gösterdiği belirtilmektedir. Plazmadaki ANF miktarının küçük kemiricilerde büyük memelilerden daha fazla olduğu tesbit edilmiştir (13). De Bold (25) plazmadaki ANF miktarını insanlarda 25 - 100 pg/ml. sıçanlarda, 100-1.000 pg/ml. olarak tesbit etmiştir. Ayrıca ANF miktarının sağ ile sol atrium arasında önemli derecede farklılık gösterdiği kabul edilmektedir. Gutkowska (47) sağ atriumda soldan 4, Ivor (83) 2-4, Cogan (13), 1,5-3 kez daha fazla olduğunu belirtmişlerdir. Bu farklılığın, sağ ile sol atrium arasındaki basınç farklılığı sebebiyle ya da henüz bilinmeyen refleks mekanizmalarından dolayı olabileceği düşünülmektedir (81,100).

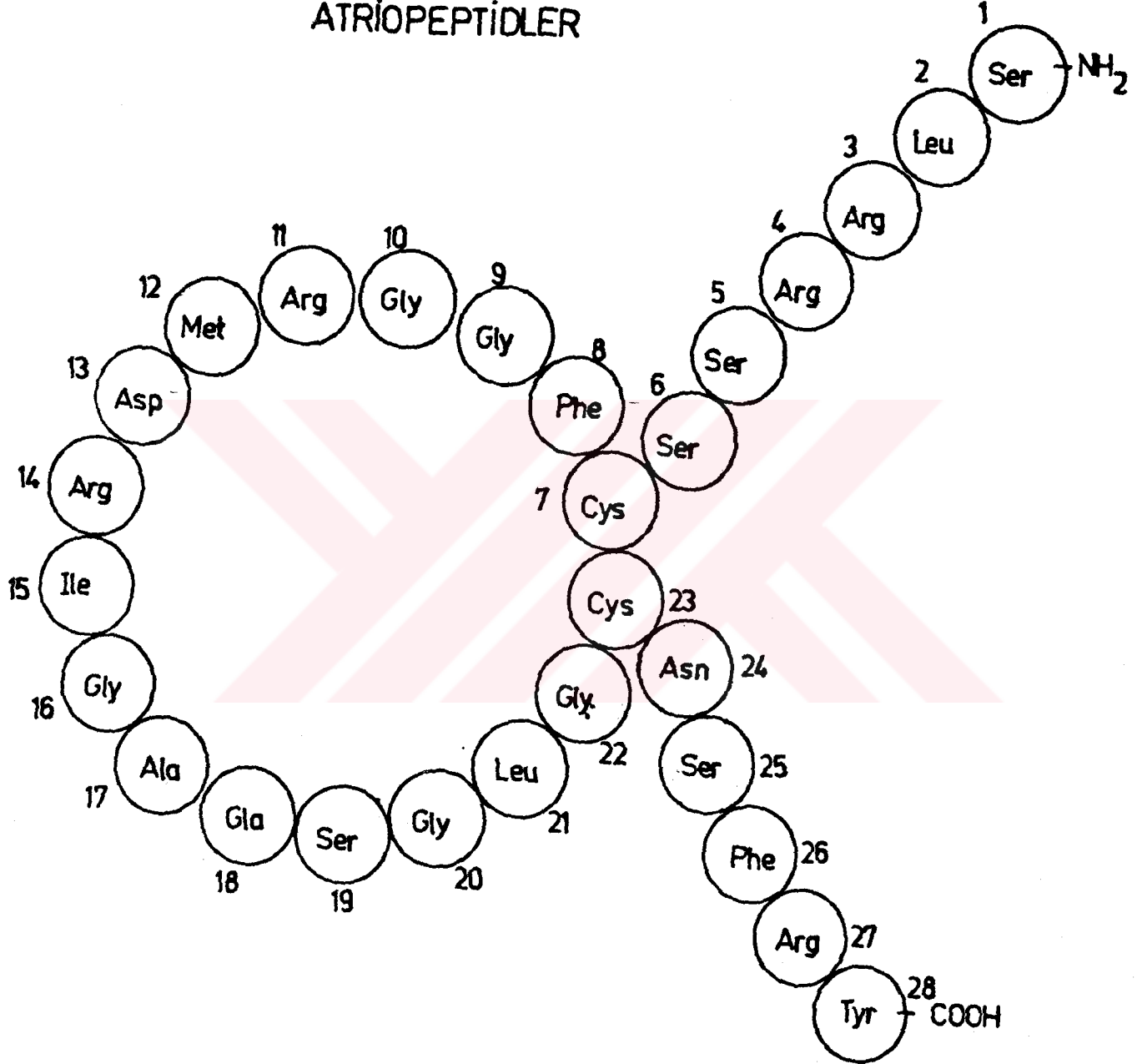
John Peters 1935'de (13) kan volümünün ve kan akımının düzenli olabilmesi için kalbin yakınında ya da içinde bir mekanizma olması gerektiğini ileri sürdü. 1950-1960 yıllarında birçok araştırmacı natriüretik hormon hakkında çeşitli hipotezler ortaya koydular (4). Bu hormonun keşfinde ilk gelişme 1956'da oldu. Bruno Kişch (13), kobay atriasının kardiositlerinde koyu cisimcikler olarak adlandırdığı granülleri gözleyerek bunların juxtaglomerular hücrelere benzediğini belirtti, 1964 yılında Jamieson ve Palade (59) bu cisimciklerin (granüllerin) insan dahil bütün memelilerde bulunduğunu tesbit ederek elektron mikroskobu kesitlerinde bu granüllerin golgi apparatus ile bitişik olmaları yüzünden salgı granülleri olarak tanımladılar. Fakat granüllerin fonksiyonları halâ bilinmiyordu. 1970'lerde atrial granüllere ilgi arttı. 1974'de Marc Cantin (47) granüllerin depo granüllerine çok benzer olduğunu ve özellikle bunların pankreas ve hipofizin anterior lobunda bulunan endokrin hücrelere çok benzediğini belirtti. 1976 Piere Yves Hatt ve arkadaşları (119) bu granüllerin Na⁺ ve

su dengesinin düzenlenmesinde rol oynadığını tesbit ederek plazma hacmi ve Na^+ düzeyine göre bu granüllerin sayısının değiştiğini buldular. Aynı yıl Gaver (58) ekstrasellular sıvı volümünün düzenlenmesinde natriuretik hormonun etkili olduğunu belirtmiştir. 1981'de De Bold (24) sıçanlara homojenize edilmiş atrium ekstraktını enjekte ettikten sonra hızlı bir diuresis ve natriuresis geliştiğini gözlemiş bu faktörü ANF olarak tanımlamıştır. 1983'de ANF'nin gerçek salgı yeri belirlenip, peptidler izole edilerek saflaştırılmıştır (123). ANF'nin protein yapısı tesbit edildikten sonra bunun da tripsine hassas olduğu anlaşılmıştır. Bu nedenle birçok araştırmacı ANF'nin bozulmadan ekstre edilebilmesi için buz içinde toplanması gerektiğini belirtmişlerdir (22). Atrial homojenatların 10 dakika'dan fazla kaynatılmasının kontraktil aktiviteyi bozmasına rağmen atrial vaso-relaksant aktivitenin 3-10 dakikalık kaynatmadan etkilenmediği ortaya koymuştur (22). Atrium ekstraselluler sıvı volümünün artması ve atrial gerilmeye cevap olarak salgılanan bu peptid hormonu sentez ve depo eder (71). Bu hormonun aktivitesi spesifik reseptörler ile ilişkilidir (90,128). Atrial kas hücresi sentezleme ve bu salgı ürünlerini depolanması için gelişmiş yapılar içerir. Bundan dolayı myoendokrin hücre terimi kullanılabilir.

Natriuretik hormonun sentez yeri için başka bir olasılığın hipotalamus olduğu da öne sürülmüştür (60,119). Periferal bir hormon gibi nörotransmitter olarak hizmet eder ve 3. ventrikülün anterior duvarına açılan bölgede yerleşmiş olan ANF'nin kardiovasküler ve renal sistemin düzenleyicisi olarak rol oynadığı düşünülmektedir (72,78,79,114,125).

Atrial granülarite su ve Na^+ miktarına göre değişmektedir. Çünkü atriada sıvı volüm reseptörleri bulunmaktadır (65,112). Böylece sıvı volümünün düzenlenmesinde rol oynayan maddelerin salınması ve sentezi için ideal bir yer olduğu düşünülmektedir (21,22,28). Ayrıca stress'in ANF salınımını arttırdığı tesbit edilmiştir. Yapılan araştırmalarda stress altındaki sıçanlarda ve kataterli hayvanlarda atrial kardiositlerin gerildiği ve salınan ANF miktarının arttığı gözlenmiştir (110). Pentobarbital hariç diğer anestezi maddeler de ANF miktarını 5-15 kat arttırdığı bildirilmektedir (37). Anestezi edilmiş sıçanlara ANF verilmesi ile idrar volümü ve Na^+ atılımının 9-15 kat arttığı tesbit edilmiştir (12). Heparin'in ise dolaşımda bulunan ANF'ye bağlanarak onun biyolojik aktivitesini inhibe ettiği bildirilmektedir (96).

ATRIOPEPTİDLER



ŞEKİL 2 : Sıçan ve insan ANF'sinin amino asid kompozisyonu.

ANF'nin atriumdan başka böbrek, beyin, parasempatik ganglion, akciğer, adrenal bez, hipofiz, karaciğer, göz gibi çeşitli dokularda da bulunduğu tesbit edilmiştir (30,32,81,119).

ANF'nin gözün siliar cisimciklerinde çeşitli reseptörlere bağlandığı ve muhtemelen göz merceği basıncını da kontrol ettiği öne sürülmüştür (128). Ayrıca ANF reseptörleri inek corpus luteum'unda da gösterilmiştir (129). Son zamanlarda embriyonik arterial ve ventriküler dokuların ANF sentez ettiği tesbit edilmiştir. ancak mRNA atrial seviyeleri birinci hafta artarken ventrikülde düştüğü belirtilmektedir (110).

Atrial peptidler aktif hormon C terminal ucunda yerleşmiş olan 152 amino asitli genel bir polipeptid preprohormondan türevlenmiştir (75). Atriumda oluşan prepro ANF'nin insanda 151 aa. sıçanda 152 a.a'dan oluştuğu belirtilmiştir (120). İnsan preproANF'si ile sıçan preproANF'si tamamen homologtur. Yalnızca 12. pozisyonda metionin yerine Isolösin bulunur(12). Her peptid disülfid bağ ile bağlanmış bir kor içerir. Disülfid bağ sistin 4 - Sistin 20 arasındadır, bu bağ ve sondan bir evvelki fenil alanin arjinin dipeptidleri biyolojik aktivite için gereklidir (4,37,38, 84,129).

Atrial kas hücresi gerçekte ANF preprohormon'unu sentezler, 126 a.a.'li polipeptidi oluşturur ve salgı granüllerinde bunu prohormon formunda geçici olarak depo eder. Preprohormonun yarılanma süresi (half-life) 2 dakikadan az olmasına rağmen depo formu proANF'nin yarılanma süresi 1 saat ya da daha uzundur. Prohormon salgı granüllerinde depolanır ve karboksil ucunda bulunan 28 a.a.'li aktif peptid atriadan salınarak dolaşıma verilir (87,123).

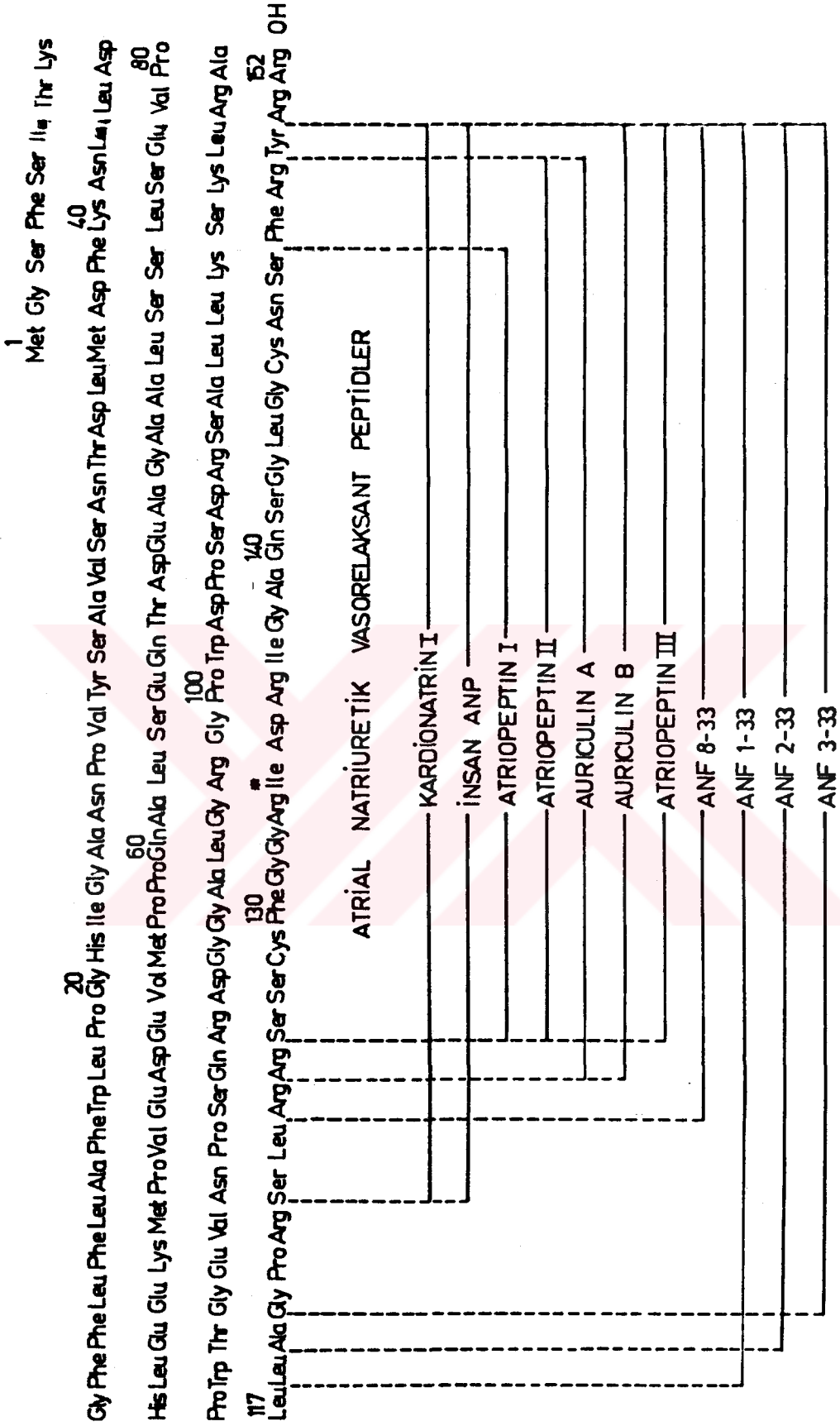
Memeli atriası biri yüksek moleküler ağırlıklı, diğeri düşük moleküler ağırlıklı iki natriuretik maddeye sahiptir. Yüksek moleküler ağırlıklı madde düşük moleküler ağırlıklı maddenin prohormonudur (2,31). Hem düşük hem de yüksek moleküler ağırlıklı peptid böbrekte aktiftir (97). Atrial ekstraktlar yüksek moleküler ağırlıklı polipeptidi düşük moleküler ağırlıklı maddeye dönüştüren bir enzime sahiptir. ProANF'nin ANF'ye

değişmesi muhtemelen salgı ya da komşu atrial hücresiyle birleşmiş bir enzim tarafından sağlanır (78,81,123).

Preprohormon'un a.a sekuansı ve preprohormonun yapısı cDNA sekuansı ile de açıklanabilmektedir (77,111). ANF gen kodundan mRNA tarafından kopya edilir (transkripsiyon). DNA'da iki intron ile birleşmiş üç ekson vardır. 1. ekson prohormonun ilk 16 amino asidini ve sinyal peptidi, 2. ekson karboksiterminal tirozin hariç geri kalan prohormonun, 3. ekson karboksi terminal thyrosini kodlar. Volüm değişiklikleri ve tuz alımı transkripsiyon hızına tesir ederek ANF biyosentezini ayarlar (89). Polipeptidin ilk 24 a.a'i klasik sinyal sekuansıdır (58,92,102,138). Diğer 128 a.a'li protein atrial granüllerde depolanan prohormondur (18,87). Sinyal peptidin endoplazmik retikulumu geçmek için gerekli olduğu düşünülmektedir (92,102).

Aminoasid dizisi, karboksil ve amino uçlarının uzunluğu ve yapısının farklılığı nedeniyle atriumda, etkisi ve molekül ağırlıkları farklı pek çok natriuretik peptid izole edilmiştir. Peptidlerdeki değişiklikler bu peptidlerin atrial granüller içerisinde proses edilmesi sırasında ya da ekstraksiyon esnasında proteolizin muhtemel sonucudur (10,4,133). Bütün aktif peptidler prerohormonun C terminal ucundan türevlenmiştir (67). Bu peptidler atriopeptin I,II,III (21/23/24 a.a), Cardionatrin I, auriculin A-B şeklinde isimlendirilmektedir (69).

Atriopeptin I serin ve glisin'den zengindir. Ayrıca natriuretik ve diuretik etkiye sahiptir ve seçici olarak barsak düz kaslarını gevşetir. Fakat vasküler düz kaslara etkisi yoktur. Atriopeptin I ve II moleküler ağırlığı 20.000-30.000 olan genel bir preprohormondan türevlenmiştir (17). Atriopeptin II, barsak ve vasküler düz kasları gevşetir, diuretik ve natriuretik etkiye sahiptir. Atriopeptin II'nin karboksiterminal ucunda Fenil-Arjinin uzanır. Her iki peptid yüksek moleküler ağırlıklı genel bir preprohormon (atriopeptijen) den türevlenir. Cardionatrin I, auriculin A-B ve atriopeptin I-II benzer natriuretik ve damar gevşetici aktivitelere sahiptir. Halbuki atriopeptin I'de C terminalinde fenil alanin-arjinin dipeptidi yoktur ve daha az aktiftir. Biyolojik aktivite için 23 a a yeterlidir (65, 121).



ŞEKİL 3 : Çeşitli Atrial Peptidlerin a.a dizisi.
*insanda Ile 134 yerine Met. bulunur (71).

Radyoaktif maddelerle bağlanmış atrin kullanılarak atrin reseptörlerinin organizmadaki dağılımı incelendiğinde reseptörlerin böbrek glomerulusları, medullar ve papillar vasa recta'larda yoğun olduğu gözlenmiştir. Diğer çalışmalarda ANF için değişik hedef dokular gösterilmiştir. Sığır, sıçan, tavşan, aortası ve böbrek korteksinin membranları ANF için spesifik bağlanma yerlerine sahiptir (136). Ayrıca adrenal bezler, beyin, kalp, arterler, ANF için hedef dokulardır. Hedef dokulardaki reseptörler peptidin fizyolojik etkilerine aracılık eder (89).

ANF organizmada başta böbrekler olmak üzere birçok organda çeşitli fizyolojik etkilere sahiptir. ANF muhtemelen glomerulus kapsülünün kandan su ve Na^+ filtresinin geçirgenliğini arttırır (109,136). ANF plazmanın ilk süzüldüğü yer olan glomerulus ile tubullerin distal kısmını etkiler. Proksimal tubullere etkisi yoktur (53). Distal tubuller filtrattan Na^+ 'un kontrollü olarak reabsorbe edildiği ve kana geçtiği bölümdür. Tubullerde ANF'nin mekanizması tam açıklanamamıştır. Enerji gerekli olduğuna dair bir bulgu yoktur. ANF aktivitesi oksijen tüketimi ve glikoz yıkımı istememekte ve diğer reabsorpsiyon mekanizmalarına benzememektedir (13).

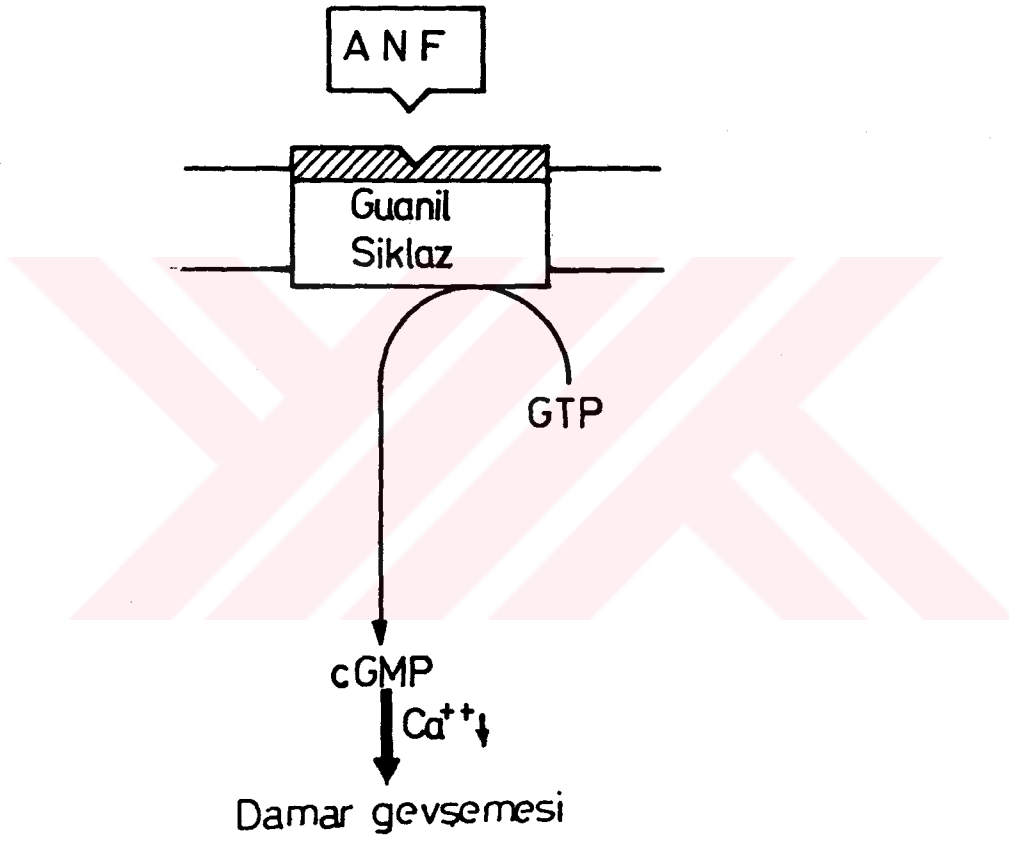
Atrial ekstraktın intravenöz verilmesi diuresis, natriuresis, kaliüresis oluşturur ve fraksiyonel Na^+ atılımını arttırır (6,26,89,112). Aynı zamanda Mg^{++} , Cl^- , Li^- atılımı da artırır. Suyun ve elektrolitlerin atılmasıdaki artış renal vaskular dirençte artma meydana getirir (49). Elektrolitlerin atılımında tesbit edilen artma tubuler reabsorpsiyonun inhibe olduğunu düşündürmektedir. ANF glomerular filtrasyon oranını arttırmaktadır. Ancak GRF'de artışın diuresis ve natriuresis için bir ön şart olmadığı belirtilmektedir (74,99). Ayrıca ANF serbest su klirensinde önemli bir değişiklik yapmaksızın idrar osmolalitesini azaltır (31).

Glomerüluslardaki çalışmalar tek nefronda ANF'nin plazma kan akımında artışlar oluşturduğunu göstermiştir (115). Araştırmacılar plazma ve ekstraselluler sıvı volümünün refleks düzenlenmesinde atriumda düşük basınç baroreseptörleri (volüm reseptörleri)'nin de yeri olduğunu ileri sürmektedirler (107,112). Son yıllarda atrial gerilimin diuretik ve natriuretik etkileri ile atrial granüller arasında önemli fonksiyonel ilişkilerin

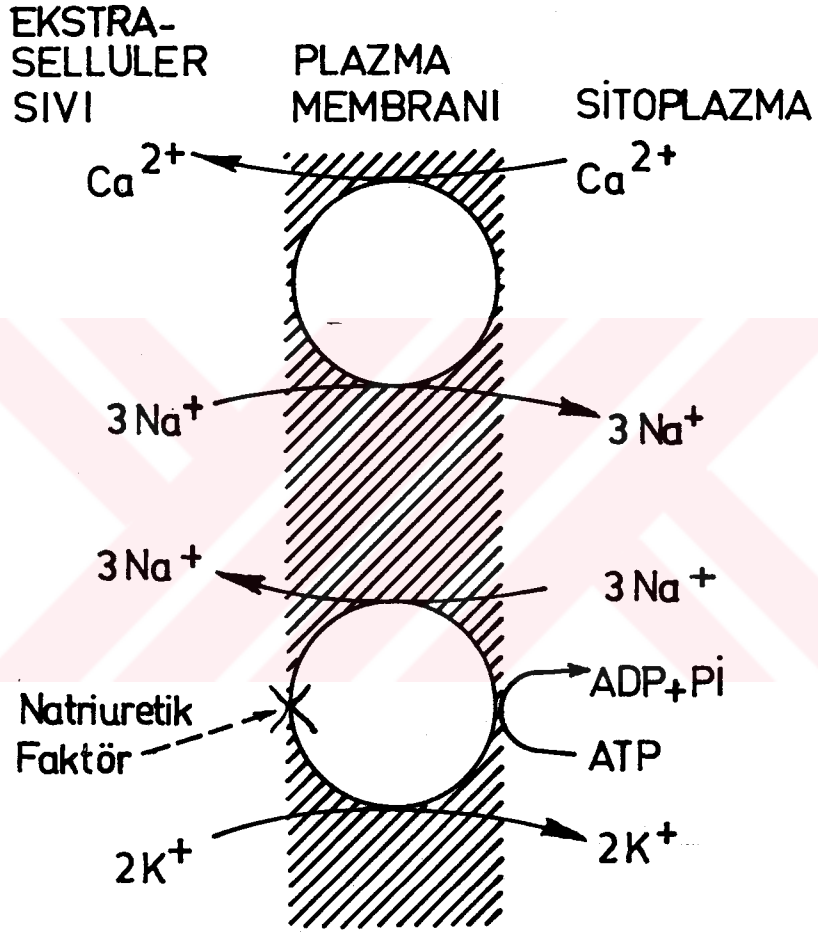
olduğu tesbit edilmiştir. Sol atrial duvarda basınç yükselmesi ile sol atriumun gerilmesini takip eden idrar atılmasındaki artma ADH'ın hipofizden salınmasının baskılanması ile açıklanabilir. Sistemik venöz basınçta yükselme muhtemelen kan volümü artması ile olan sağ atrial basınçta artış, Na^+ ve su atılımını izleyen vücut sıvı volümünü kontrol eden renal homeostatik mekanizma için gerekli bir başlangıç olarak kabul edilmektedir (64,107).

ANF'nin önemli bir özelliği vasodilatör bir etkiye sahip olmasıdır. (101,133). ANF angiotensin, norepinefrin ya da K^+ ile önceden kasılmış olan düz kasları gevşetir (18). Sıçan ve köpeklerde koroner arter, pulmoner arter, dalak arteri, iliak ve mezenterik arterler üzerinde değişik etkileri bulunmuştur. Bunu hücre yüzeyindeki spesifik reseptörlerde ilişkiye girip membrana bağlı guanil siklazın aktivasyonu sonucu hücre içi cGMP seviyelerini arttırarak yapabilir (20).

Guanil siklazın aktivasyonu doku spesifiktir. cGMP'in çeşitli dokularda ANF için ikinci haberci olduğu ileri sürülmektedir. cGMP hedef hücrelerde protein kinazları teşvik eder (92,125,126). Aktivite edilmiş protein kinaz proteinlerin fosforilasyonuna neden olur. Vasküler düz kas hücrelerinde çeşitli proteinler cGMP tarafından fosforilize edilirler. ANF böbrekte vasküler düz kaslarda cGMP'ye bağlı protein fosforilasyonu spesifik fosforilasyonunu arttırarak çeşitli dokularda Ca^{++} mobilizasyonu vasküler düz kaslarda ANF aksiyonunun muhtemel bir mekanizması olarak tanımlanmaktadır. Sarkoplazmik retikulum ile ekstrasellüler sıvı arasındaki Ca^{++} alışverişinden sorumlu mekanizmaların en önemlileri Ca kanalları ve Na^+ - Ca^{++} değiş tokuşudur. Çalışmalar iki tip sarkolemmal Ca^{++} kanalı olduğunu göstermiştir. Voltaja bağımlı Ca kanalları membran depolarizasyonuna cevap olarak açılır. Dinlenme membranında direk bir değişme depolarizasyona sebep olur. Bu değişme Na pompasının inhibe edilmesi ve hücre içi Na^+ konsantrasyonunun artmasına yol açmaktadır. Na^+ konsantrasyonu arttığında K^+ konsantrasyonunun azaldığı gözlenmiştir. Her iki K^+ iyonunun hücre içine girmesi 3 Na^+ dışarı çıkmasına neden olur. Ayrıca Na^+ konsantrasyonunun artması hücre içi Ca depolarından Ca^{++} salınımını büyük ölçüde arttırmaktadır (7). Ca kanalları içine Ca^{++} girmesi depolarizasyonu arttırır. Ca iyonunda artış norepinefrin için uyarıcıdır (18).



ŞEKİL 4 : ANF ile cGMP aksiyonunun mekanizması (43).



ŞEKİL 5 : Atrial natriuretik hormon ve $Na^{+}-K^{+}$, $Na^{+}-Ca^{+}$ değişimi arasındaki ilişki (7).

Hücre içinde artan cGMP fosfodiestrazı inhibe ederek hücre içine Ca^{++} girişinin artmasına yol açar ve kontraktıl aktivitenin artmasına katkıda bulunur. cGMP birikimi glomeruluslarda fazla olmaktadır. Henlenin çıkan kulpunda ve toplayıcı kanallarda birikim olurken proksimal tübüllerde birikim olmadığı gözlenmiştir (11).

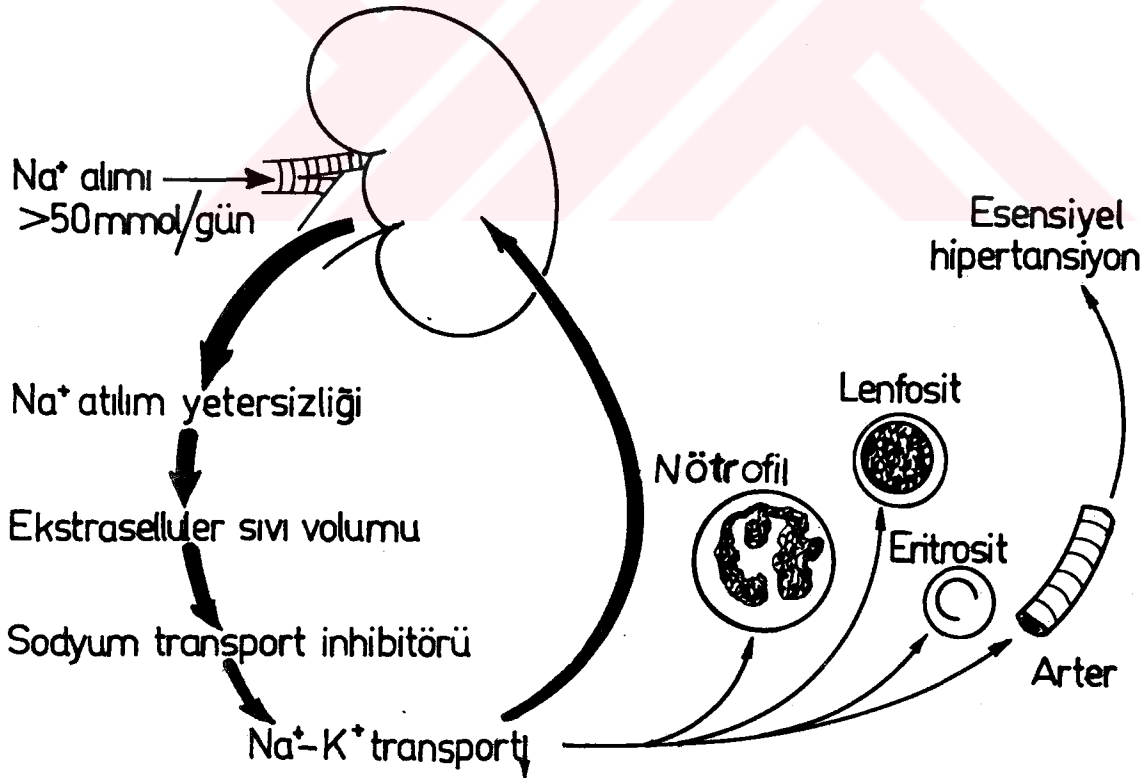
ANF çeşitli hastalıklar üzerine etkilidir. Bunlardan en önemlisi hipertansiyondur. Esansiyel hipertansiyonlu hastalarda plazma ANF konsantrasyonunun yüksek olduğu belirlenmiştir. Ayrıca kalp yetmezliği olan hastalarda 5, sirözlü hastalarda 4 kez, hasta gebelerde ise %25 daha yüksek olduğu tesbit edilmiştir (12,45,117). Hipertiroidli hastalarda sağ ve sol atrial mRNA konsantrasyonunun arttığı belirlenmiştir (69,137). α hANF'nin hipertansif hastalara intravenöz verilmesi ile idrar volümünde önemli bir yükselme ve kontrollerden daha yüksek Mg^{++} , Ca^{++} ve Na^+ atılımına sebep olduğu gösterilmiştir (6).

Borst de Geus (6) ilk kez esansiyel hipertansiyonun böbreğin Na^+ atılım kontrolünün bozulmasından dolayı olduğunu açıklamıştır. Son zamanlar da tuzun hipertansiyona sebep olduğu konusunda görüş birliği vardır. Esansiyel hipertansiyonu etkileyen faktörlerden birisinin de genetik yada Na^+ atabilme yeteneğinde renal eksiklikler olduğu düşünülmektedir (7). 1960'lardan önce Dahl ve arkadaşları (41) genetik olarak hipertansiyona hassas sıçanlar geliştirmişlerdir. Tuza hassas ırklarda yüksek tuz içeren diyetler hipertansiyon geliştirdiği halde aynı diyetin tuza dayanıklı ırklarda bir etki göstermediğini açıklamışlardır. Hipertansif bireylerde Na metabolizması eksik olduğu ve normal bireylerden fazla G6PD (glikoz 6 fosfat dehidrogenaz)'ın aktive edildiği belirtilmiştir.

Tobian ve Dahl (79) genetik olarak hipertansif olan bir sıçandan normal bir sıçana böbrek transplante edildiği zaman normal sıçanın hipertansif olduğunu gözlemişlerdir. Bu teoriye göre hassas bir bireyin böbreğine atabileceğinden daha fazla tuz gelirse vücutta tuz birikimine bağlı olarak kan volümünün artacağı ve böylece natriüretik hormonun salınması uyarılacağı düşünülmektedir. Esansiyel hipertansiyonlu hastalarda ve genetik olarak hipertansif sıçanlarda ANF'nin plazma seviyelerinin normotensif'

lere göre iki kat daha fazla olduğu belirlenmiştir (122,129). Esansiyel hipertansiyonlu hastalarda kan basıncı besinlerle alınan Na^+ azaldığı zaman azalır, arttığı zaman artar. Aynı zamanda volüm artması ve Na^+ - Ca^{++} değişiminin inhibisyonunun arterial basıncı arttırdığı belirtilmektedir. Ayrıca Cl^- , Ca^{++} , K^+ , Mg^{++} gibi Na metabolizmasını da etkileyebilen diğer faktörler de vardır. BU minerallerin atılması Na^+ atılmasına bağlıdır. Na^+ 'nın dietsel alımı ile Cl^- , Ca^{++} , Mg^{++} , K^+ 'un atılımı artar (7).

Bir görüşe göre ise kan basıncının yükselmesinde natriuretik hormonun da rolü bulunduğu açıklanmıştır. Bu görüşe göre natriuretik hormon (Na^+ transport inhibitörü) böbrekte Na^+ - K^+ transportunu inhibe ederek idrarla Na^+ atılımını arttırır. Fakat aynı zamanda diğer hücrelerdeki transportuda inhibe eder. Arterlerin düz kasındaki iyon değişimleri sonucunda daralmaya sebep olur. Böylece kan basıncı artar. Natriuretik hormonun salınması yüksek Na^+ alımı ile artar. Böyle bir faktör Na^+ dengesinin korunması için gereklidir (6).



ŞEKİL 6 : Natriuretik hormon ve hipertansiyon arasındaki ilişki (79).

Natriuretik hormon renal tubuler epitel hücrelerinde, alyuvarlarda, vasküler düz kas hücrelerinde ve çeşitli hücrelerde Na^+ pompalarını inhibe ederek Na^+ geri emilimini azaltır. Yıllar önce Na iyonlarının Ca iyonları ile yer değiştirdiği iyon transport sistemi biliniyordu. Anormal derecede yüksek interselluler Na iyon konsantrasyonları ve yüksek kan basıncı arasında bir bağ vardır. Ca iyonları kas kontraksiyonu için uyarıcıdır. Vasküler düz kas hücreleri ve sempatik nöronlarda Na^+ artması, sonucunda hipertansiyon ve vasküler tonusda artmalar meydana gelmektedir (7). Düşük düzeyde tuz alan toplumlarda renin-angiotensin-aldosteron sisteminin maksimum olarak uyarıldığı görülmektedir. Hipertansiyon olaylarına bu toplumlarda çok daha az rastlanılmaktadır (29).

Natriuretik hormon Na^+ atılımını arttırır. Na^+ transportu Na-K-ATP az tarafından ATP 'nin hidrolizi sırasında açığa çıkan enerjiyi kullanan bir pompa ile yapılır. Mineralokortikoidlerin kullanımı ile kronik olarak ya da çeşitli nedenlerle akut olarak vücut sıvı volümünün arttığı durumlarda plazmada natriuretik özellikler yanında Na-K-ATPaz aktivitesi normal bireylerden daha fazla olmaktadır. Oubain, Na-K-ATPaz ı 6 dakika içinde inhibe etmekte (G6PD 'i 2 dakika içerisinde uyarmaktadır)(1). Plazma katekolaminlerinin de esansiyel hipertansiyonda arttığı gözlenmiştir (6).

ANF 'nin konjestif kalp yetmezliğinde önemli bir rolü vardır. Atrial basınçta küçük bir artış ANF 'nin hipersekresyonuna neden olmaktadır. Kronik böbrek yetmezliğinde Na^+ atılımındaki artış Na^+ transport inhibitöründeki artmaya bağlıdır. Kalp yetmezliği olan hastalarda ANF infüzyonu sonucunda koroner vasküler dirençte azalma ve koroner kan akımı, myokardial oksijen ya da laktat metabolizmasında önemsiz değişmelere sebep olmaktadır (8,54). ANF eksikliği konjestif kalp yetmezliğinde ödeme yol açmaktadır. İnsanlardaki çeşitli araştırmalar konjestif kalp yetmezliği olan hastalarda plazma ANF konsantrasyonunun arttığını göstermiştir (15,40,131,132). Konjestif kalp yetmezliği olan hastalarda ANF 'nin infüzyonu su ve Na^+ atılımında artmaya neden olmaktadır. Fakat K^+ atılımında farklı tepkiler olduğu belirtilmektedir (112,121). Norepinefrinin intrarenal infüzyonu akut renal yetmezliğin oluşumun kolaylaştırılan norepinefrine karşı koruyucu etkisi deneysel olarak ortaya konmuştur (122). ANF 'nin büyük miktarda

salınmasını hastalığı geçiktirdiği açıklanmıştır. Ca girişi bloklayıcıları deneysel iskemik akut renal yetmezliğe karşı önemli koruyucudur. Renal sempatik sinirin stimülasyonu ile teşvik edilen renal iskemiye ANF ile karşı koyulabileceği belirtilmektedir (65).

John Peters'in 1935'de kan volümünün ve kan akımının düzenlenmesi için kalbin yakınında ya da içinde bir mekanizma olması gerektiğini belirtmesinden sonra bu konu birçok araştırmacının ilgisini çekmiştir. 1956'da Bruno Kisch kobay atriasında koyu cisimcikler halinde granülleri gözlemiştir. Elektron mikroskop'u araştırmalarında bu granüllerin bütün memellerin kardiositlerinde bulunduğu belirlenmiştir. 1981'de De Bold atrial ekstraktı sıçanlara intravenöz olarak vererek natriuresis ve diuresisi gözledi ve bu faktörü ANF olarak tanımladı. 1983'de ANF'nin salgı yeri belirlenip saflaştırıldı ve aynı yıl ANF sentetik olarak sentezlendi. cDNA sekansı ile ANF'nin yapısı açıklanıp sıçan ve insan ANF'sinin bir a.a dışında diğerlerinin aynı olduğu gösterilmiştir. Son zamanlarda ANF'nin böbrekten başka diğer dokularda da etkili olduğu tesbit edilmiştir.

ANF üzerindeki araştırmalar son yıllarda artık hücresel düzeyde yapılmaya başlamıştır ve nitekim bu çalışmalar önümüzdeki yıllarda bilim dünyasına çok daha fazla bilgi getirecek ve ANF hakkındaki birçok karanlık noktanın aydınlanmasını sağlayacaktır.

3. MATERYAL VE METOD

3.1. MATERYAL

3.1.1. Deney Hayvanları :

Araştırmada ortalama ağırlıkları 200-250 g. olan erişkin erkek Wistar albino arki sıçanlar kullanıldı. İ.Ü. Deneysel Tıp Araştırma merkezinden temin edilen sıçanların bakımları da burada yapıldı. Sıçanlar hergün %21 protein, %0,3 sodyum, %0,6 fosfor, %1,2 kalsiyum içeren fare yemi ile beslendiler. Yemler İstanbul Yem Sanayiinden temin edildi. Mineral analizleri TÜBİTAK'ta yapıldı. Hayvanların su ihtiyacı özel suluklarla sınırsız olarak karşılandı.

Ekstrakt elde etmek için koyun ve sıçan atriumları kullanıldı. Koyun atriumları Küçükçekmece mezbanasında kesim için gelen sağlıklı koyunlardan temin edildi. Sıçan atriumları Deneysel Tıp Araştırma Merkezinde yetiştirilen Wistar albino ırkı sıçanlardan elde edildi.

3.1.2. Deney Grupları :

Bu çalışmada 4 ayrı grup için 40 adet erkek wistar albino ırkı sıçanlar kullanıldı.

Grup I : Normal yemle beslenmekte olan hayvanlara bir hafta süreyle %4 tuz ilave edilmiş yem verilerek, koyun atrial ekstraktı verildi.

Grup II : Wistar albino ırkı sıçanlardan elde edilen atrial ekstrakt yine aynı ırk hayvanlara verildi. Bu iki gruptaki hayvanlar normal tuz ve mineralleri içeren yemlerle beslendiler.

Grup III : Bu gruptaki deney hayvanları normal tuz ve mineralleri içeren yemlerle beslendiler ve koyunlardan elde edilen atrial ekstraktlar verildi.

Grup IV : Normal yemle beslenmekte olan hayvanlar bir hafta süreyle tuzsuz yemle beslendiler ve koyun atrial ekstraktı verildi.

3.1.3. Deneylerde Kullanılan Alet ve Malzemeler :

3.1.3.1. Deneme Odası : İ.Ü. Deneysel Tıp Araştırma Merkezinde (DETAM) mevcut olan bakım odası hayvanların bakım ve muhafazası için kullanıldı. Sıçanlar odanın içinde yer alan yemlik ve suluğu bulunan kafeslerde muhafaza edildi.

Deneme odası 12 saat süreyle yapay olarak aydınlatıldı. Havalandırma aspiratörler ile sağlandı. Deneme odası haftada üç kez, kafesler haftada bir kez temizlendi.

3.1.3.2. Metabolik Kafesler : Sıçanlardan idrar örnekleri alabilmek için deneyden bir gün önce metabolik kafeslere aktarıldılar. Kafeslerin üst kısmında yem ve suyun verildiği iki ayrı bölüm alt kısmında ise idrar ve dışkının toplandığı iki ayrı bölüm mevcuttur. Böylece idrar ve dışkı birbirine karışmadan kolayca idrar toplanabilmektedir. Ayrıca idrarın toplandığı kısımda bir huni vasıtasıyla en ufak miktardaki idrar alınabilmektedir. Bu kafesler her kullanımdan sonra temizlenmişlerdir.

3.1.3.3. Analitik Çalışmalarda Kullanılan Malzemeler : Hayvanlardan kalplerin alınması sırasındaki cerrahi işlemler için gerekli olan cerrahi aletler, atriumların saklanması için plastik buz torbaları, atrial ekstraktın hazırlanmasında 0,1 M, 1 M asetik asit, homojenizatör (Bocsh), soğutmalı santrifüj (Jouan), santrifüj (Jouan), liyofilizatör (Lyovac-Heraeus) kullanıldı. Ekstrakt plastik godeler içinde derin dondurucuda saklandı. Osmalalite tayini için osmometre (Fiske) kullanıldı. Na^+K^+ tayini ve flame fotometre (Eppendorp flame photometer Type 700), Reaktif 1,2, 5,15, standart reaktif A ve B volumetrik balonlar ve beherglaslar kullanıldı.

Reaktifler (101) :

Reaktif 1 (%1 steraks SE stok solüsyonu) : 250 ml'lik bir beherglasda 5 g. steroks SE tartıldı. Bunun üzerine 200 ml. distile su konup karıştırıldı. 500 ml'lik volümetrik bir balona aktarıldı ve balon işaretine kadar distile su ile doldurulup pireks şişede saklandı.

Reaktif 2 : 50 ml. standart reaktif A'dan alınıp 500 ml'lik volümetrik balona koyup distile su ile tamamlanarak pireks şişede saklandı.

Reaktif 5 (%0,02 steraks SE) : Bir pipetle 10 ml. reaktif 1'den alınıp 500 ml'lik volümetrik bir balona konur. İşaretine kadar distile su ile doldurulur. İyice karıştırılıp pireks şişede saklandı.

Reaktif 15 : 1,5 mEq/L sodyum, 0,05 mEq/L potasyum, %0,02 steroks SE 1000ml'lik volümetrik bir balona 60 ml. çalışma reaktif 2'den ve 5 ml. standart reaktif B'den konur. Üzerine 20 ml. çalışma reaktif 1 ilave edilip distile su ile balon işaretine kadar tamamlandı.

Standart Reaktif A (10 mEq/L sodyum) : 0,7455 g. 125°C'de yarım saat kurutulmuş ve bir desikatörde soğutulmuş 7,306 g. saf sodyum klorür tartılıp distile su ile eritildi. 500 ml.'lik volümetrik bir balona aktarılıp distile su ile tamamlandı.

Standart Reaktif B (250 mEq/L potasyum) : 0,7455 g. 125°C'de yarım saat kurutulmuş ve desikatörde soğutulmuş saf potasyum klorür tartılıp 1000 ml'lik volümetrik balona konup distile su ile tamamlanıp pireks şişede saklandı.

3.2. Deneylerde Kullanılan Metodlar :

3.2.1. Atrial Ekstraktın Hazırlanması (24,46,52,127) :

Hayvanlar kesildikten hemen sonra kalpleri hızlıca alınıp atriumları ayrıldı. Dokular plastik torbalar içerisine koyulup buz torbalar içerisine yerleştirildi ve hemen laboratuvara getirildi. + 4°C odada atriumdaki kaslar diğer dokulardan ayrıldı. Toplanan dokular kurutma kağıdı ile kurutulduktan sonra tartıldı. Her gram doku için 5 ml. buzlu 1 M asetik asit ilave edilip 10.000 rpm'de +4°C'de soğutmalı santrifüjde 15 dakika santrifüj edildi (5). Supernatant liyofilize edildi. Bu liyofilize edilen materyalin her gramı 2 ml. 0,1 M asetik asitle sulandırıldı. 5 dakika

3.000 rpm'de santifüj edilip, RH'sı 7,4'e ayarlanıp kullanılıncaya kadar plastik godelerde -70°C'de saklandı.

3.2.2. Atrial Ekstraktın Hayvanlara Verilmesi :

Bu çalışmada farklı 4 deney grubunda 40 adet erkek wistar albino sıçanlar (200-250 g) kullanıldı. Hayvanlar deney esnasında metabolik kafeslere koyuldu. Ekstrakt, kuyruk venin'den verildi. Kan örnekleri de kuyruk veninden alındı (127).

Deney hayvanlarının 4 ayrı grubunda da ekstrakt verilmeden önce kontrol amacıyla kan ve idrar örnekleri alındı. Grup I, III, IV 'e koyunlardan elde edilen ekstrakttan 0,5 ml. intravenöz olarak verildi. Enjeksiyondan 5 ve 15 dakika sonraki periyotlarda idrar ve kan örnekleri toplandı. Grup II'e ise wistar albino ırkı sıçanlardan elde edilen ekstrakttan 0,5 ml. verilerek yine 5 ve 15 dakika sonraki idrar ve kan örnekleri toplandı.

3.2.3. Na⁺ - K⁺ Tayini (101) :

- Serumda Na-K ve idrarda Na tayini için alınan plazma örneği (50µl) bir beherglas'a konup 400 defa, idrarda K⁺ tayini için 1000 defa reaktif 5 (%0,02 steraks SE) ile dilue edildi.
- 10 ml.'lik bir beherglas 4/5'ine kadar çalışma reaktif 15 ile dolduruldu. Reaktif 15 ihtiva eden beherglas numunenin konduğu yere konuldu.
- Flame fotometre üzerindeki BLK kaba ve ince kontrol düğmesi sıfıra ayarlandı.
- Bundan sonra kapının mandalı saat istikametinde çevrilerek çalışma reaktif 15, ihtiva eden beherglas atomize pozisyonuna yükseltildi.
- GALV ince kontrol düğmesi ile galvanometre ibresi 21.400 direkt

okuma skala tablosu üzerinde 150 veya 6.401 transmitans optik dansite skala tablosunun %T skalası üzerinde 65'e ayarlandı.

- Reaktif ihtiva eden beherglas yerine dilue numuneyi ihtiva eden beherglas konup, numune atomize edildi.
- Sodyum konsantrasyonu 21-400 direkt okuma skala tablosundan okundu.
- Potasyum tayini içinde numuneyi ihtiva eden beherglas yerine çalışma reaktif 15 bulunan beherglas konup GALV kaba kontrol düğmesi saat istikametinde 1/8 çevrildi. BLK kaba ve ince kontrol düğmeleri ile galvanometre ibresi sifıra ayarlandı.
- Reaktif 15 atomize edildi. GALV kaba ve ince kontrol düğmeleri ile 21-400 direkt okuma skala tablosundan potasyum skalası üzerinde 5'e ayarlandı.
- Reaktif ihtiva eden beherglas alınıp bunun yerine numunenin bulunduğu yere dilue numuneyi ihtiva eden kap kondu ve atomize edildi.
- Potasyum konsantrasyonu direkt olarak 21-400 direkt okuma skala tablosundan okundu.

3.2.4. Osmolalite Tayini (101) :

Alınan plazma ve idrar örneği (50 µl) 1:2 oranında distile su ile dilve edilerek donma noktası tayini esasına göre çalışan osmometreye konup okuma skalasından okundu.

3.2.5. İstatistik Analizleri (33) :

Her bir deney grubuna ait Na⁺, K⁺ ve osmolalite değerlerinin standart sapmaları hesaplandı ve gruplar arasındaki ilişkinin t testi ile anlamlı olup olmadığı tesbit edildi.

$$S = \left[\sum X^2 - \frac{(\sum X)^2}{N} \right] / (N - 1)$$

$$SH = \frac{S}{\sqrt{n}}$$

$$t = \frac{|m_1 - m_0|}{\frac{S}{\sqrt{n}}}$$

SH = Standart hata

m_1 = Deneysel ortalama

m_0 = Teorik ortalama

S = Standart sapma

n = Deney sayısı

BULGULAR

Bu çalışmada koyunlardan elde edilen atrial ekstraktlar, bir hafta süreyle %4 tuz ilave edilmiş, tuzsuz ve normal miktarda tuz ve mineralleri içeren yemlerle beslenen sıçanlara verilerek, üç ayrı zaman aralığında (enjeksiyondan önce, 5 ve 15 dakika sonra) plazma ve idrarda sodyum-potasyum ve osmolalite değerleri tesbit edildi. Kontrol amacıyla da sıçanlardan elde edilen atrial ekstraktlar yine aynı ırk sıçanlara verilerek sodyum-potasyum ve osmolalite değerleri karşılaştırıldı.

Atrial Ekstraktın Sodyum Atılımına Etkisi :

Elde edilen atrial ekstraktlar %4 tuz ilave edilmiş yemle beslenen (Grup I); sıçanlardan elde edilen ekstraktın verildiği (Grup II); normal tuz ve mineralleri içeren yemle beslenen (Grup III); tuzsuz yemle beslenen (Grup IV) gruplara verildiğinde plazmadaki sodyum miktarı ve idrar örneklerindeki sodyum miktarı tesbit edilmiştir (Tablo 1,2). Gerek plazma, gerekse idrardaki sodyum düzeyinin %4 tuz ilave edilmiş grup da, diğerlerine oranla daha yüksek olduğu gözlenmiştir (Şekil 1,2).

Atrial Ekstraktın Potasyum Değerlerine Etkisi :

Dört ayrı gruba atrial ekstraktların intravenöz enjeksiyonundan sonra plazmaya ait potasyum değerleri ve idrara ait potasyum değerleri gösterilmiştir (Tablo 1,2). Tesbit edilen değerlere göre atrial ekstraktın ilk 5 dakika sonra eski değerine doğru düşmeye başladığı gözlenmiştir (Şekil 3,4).

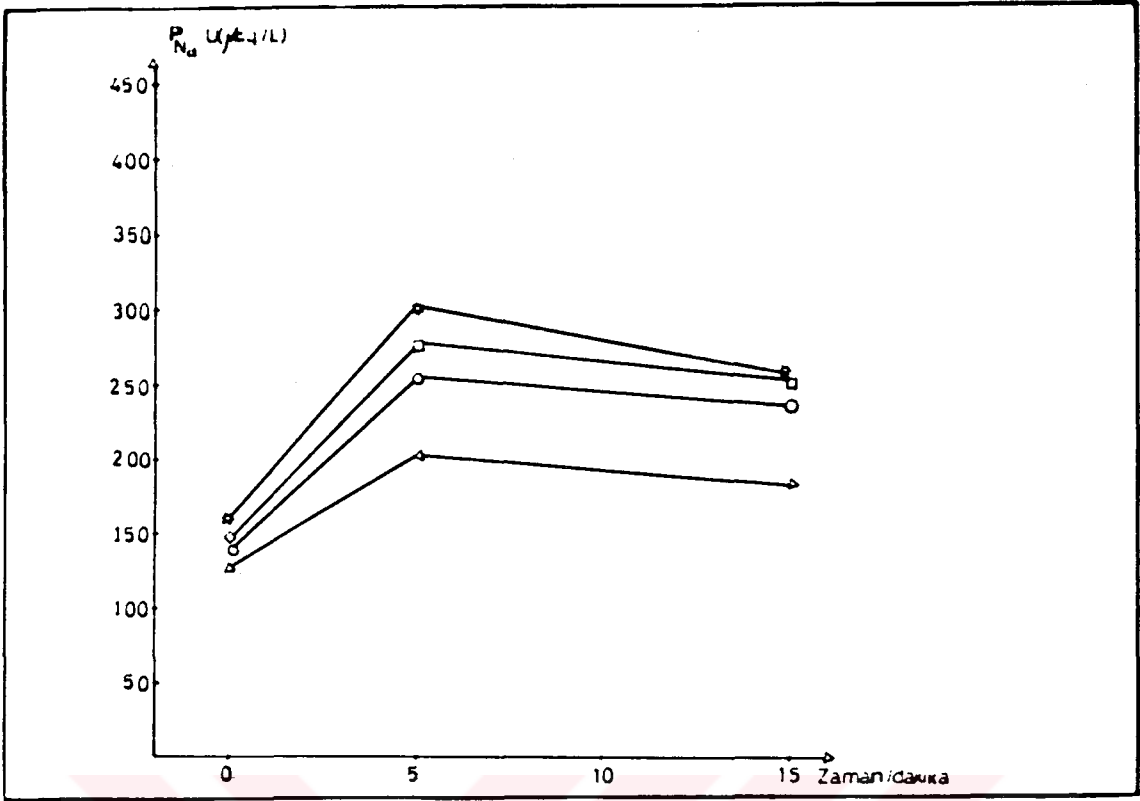
Atrial Ekstraktın Osmolaliteye Etkisi :

Çalışılan dört gruptaki plazma osmolalite değerleri, idrar örneklerine ait osmolalite değerleri tesbit edilmiştir (Tablo 1,2). Şekillerde de görüldüğü gibi ilk 5 dakika içinde kontrol değerlerine göre osmolalitede düşme, daha sonra ise tekrar yükselme olduğu gözlenmiştir (Şekil 5,6).

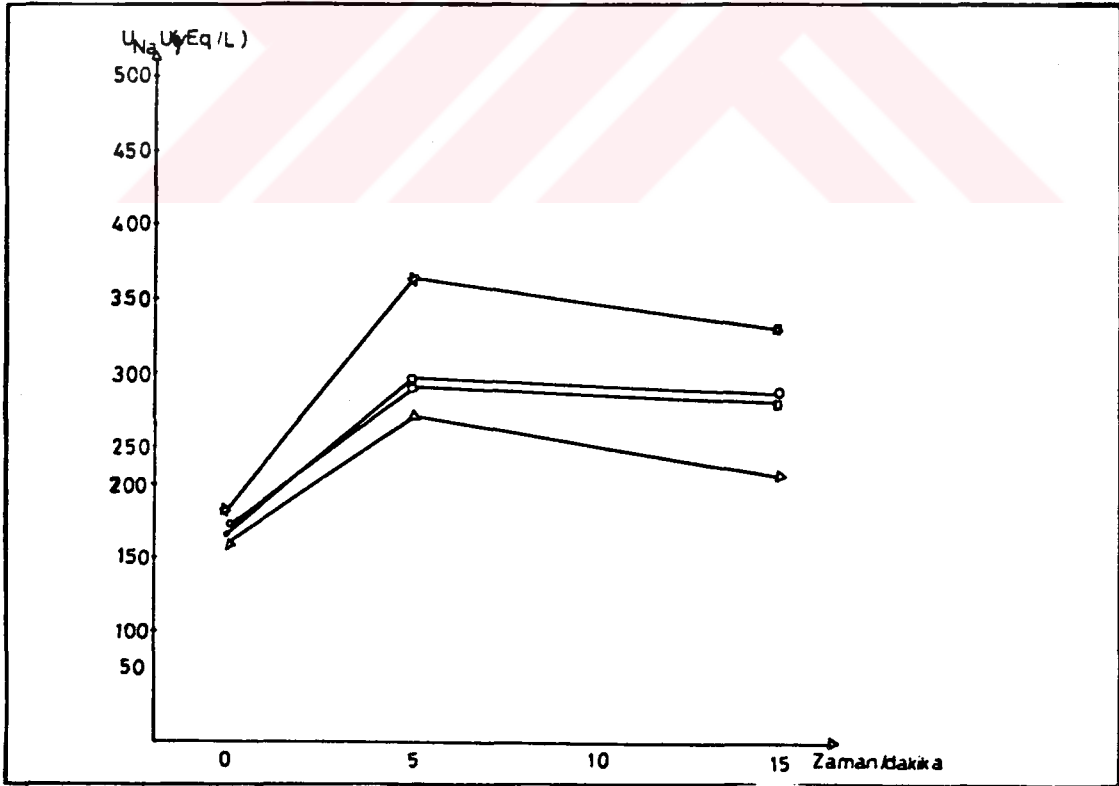
Koyun ve sıçanlardan elde edilen atrial ekstraktların sodyum, potasyum ve osmolalite üzerine benzer etkilere sahip olduğu tesbit edilmiştir. Ancak sıçanlardan elde edilen ekstraktların koyunlardan elde edilenlere göre daha etkili olduğu saptanmıştır. Ayrıca tuz içeriğinin de etkili olduğu gözlenmiştir.

Histolojik Bulgular :

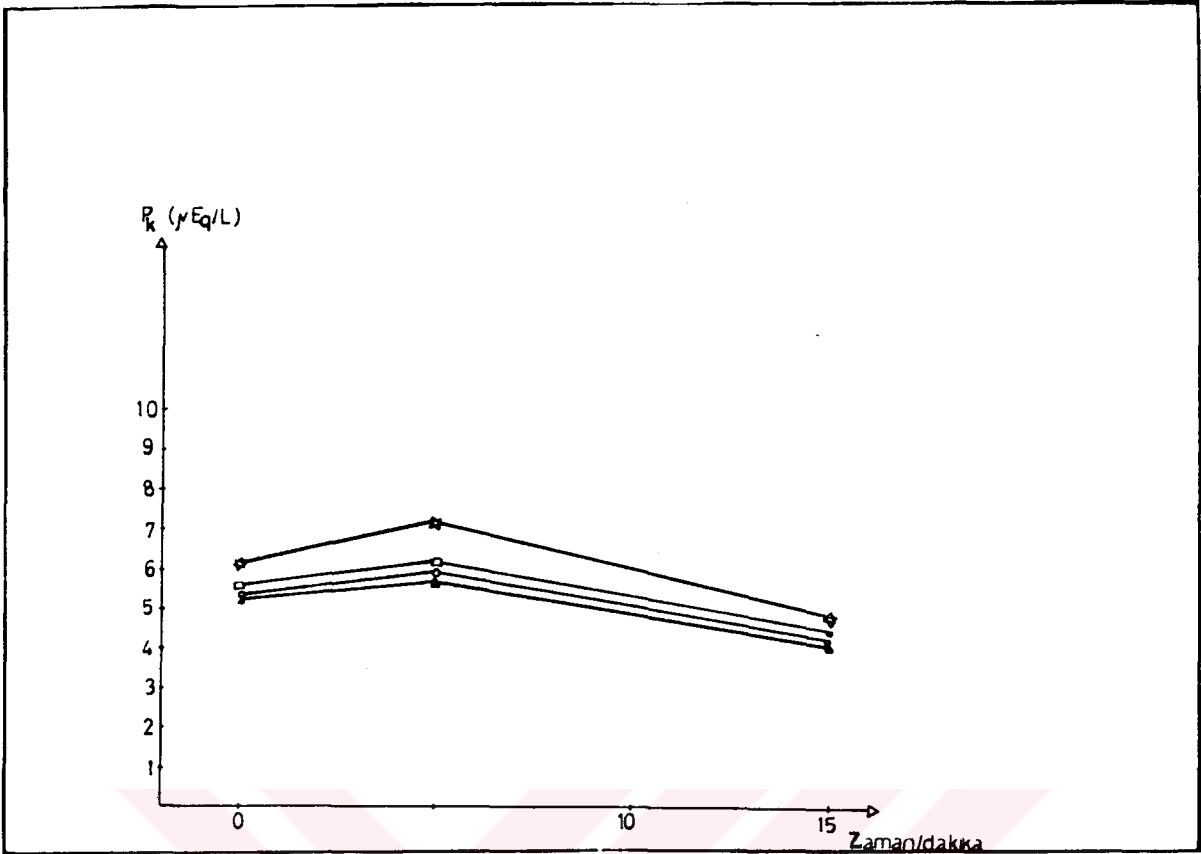
Bu çalışmada atrial granülleri gözlemek amacıyla koyun ve sıçan atrium ve ventriküllerinin elektron mikroskobu kesitleri alınıp fotoğrafları çekildi (Resim 1,2,3,4,5). Elde edilen kesitlerde atriumda nukleus etrafında granüller gözlenmesine rağmen ventriküllerde olmadığı gözlenmiştir. Sıçan atriumları koyun atriumlarına göre daha fazla granül içerdiği tesbit edilmiştir. Granüllerin sağ atriumda soldan daha fazla olduğu gözlenmiştir. %4 tuz ilave edilmiş yemle beslenen sıçanlardan elde edilen atrial kesitlerde granüllerin daha yoğun ve büyük olduğu tesbit edilmiştir.



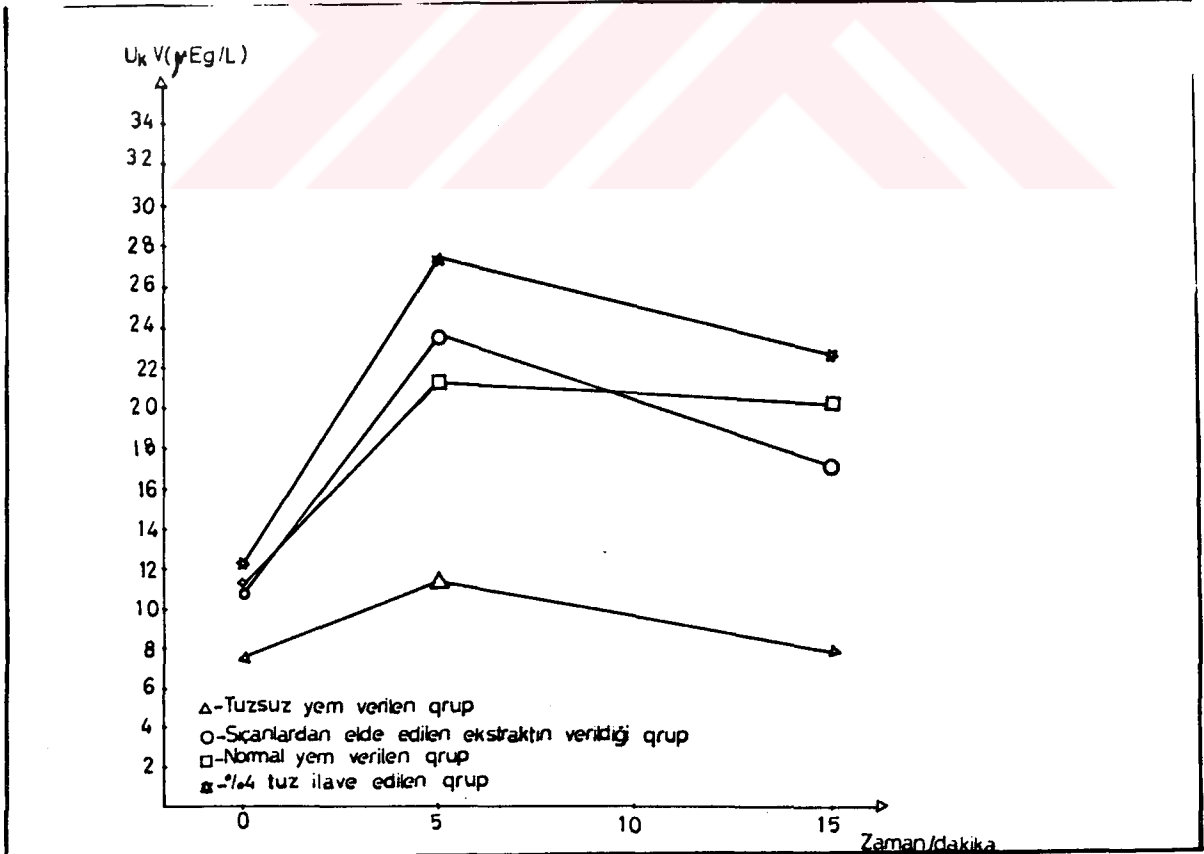
ŞEKİL 1 : Sıçanlara atrial ekstraktın verilmesiyle plazma sodyum düzeyinde meydana gelen değişiklikler.



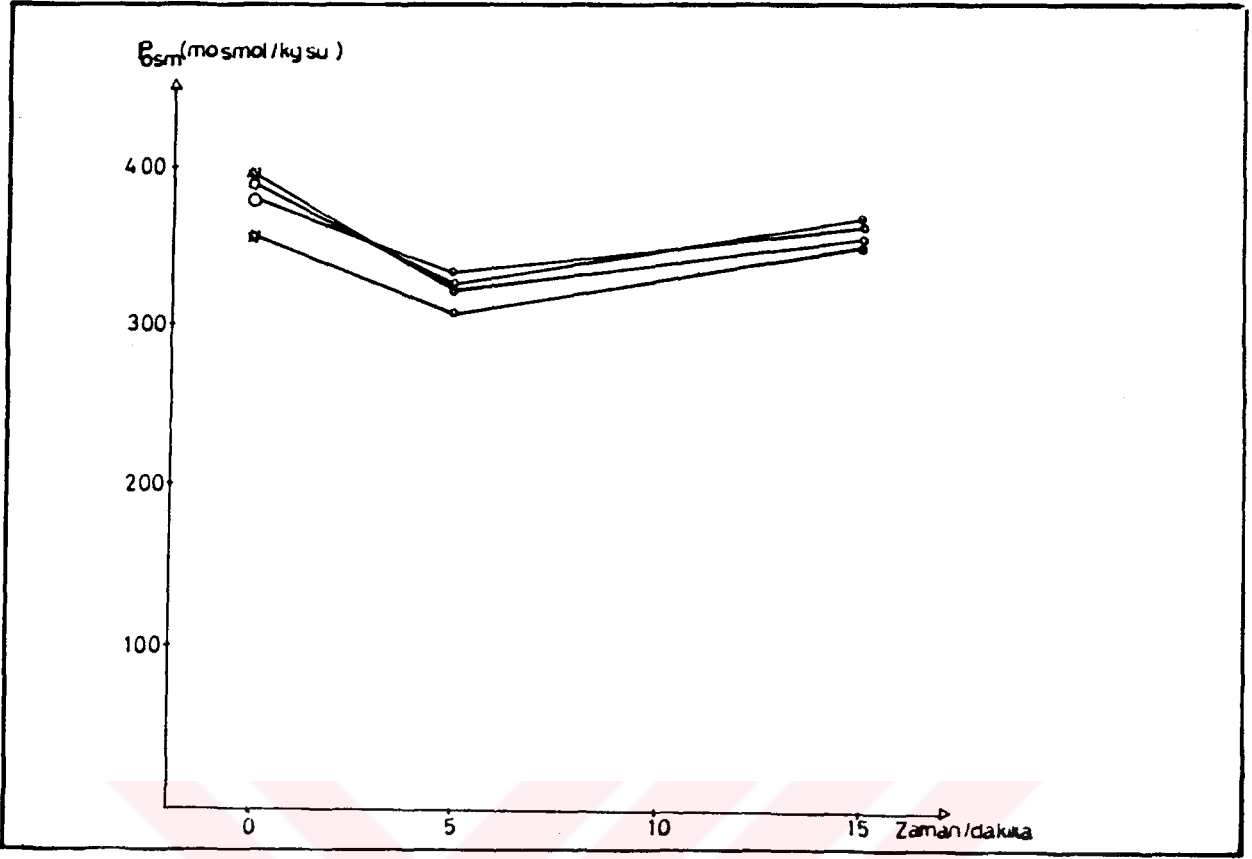
ŞEKİL 2 : Sıçanlara atrial ekstraktın verilmesiyle idrarla atılan sodyum düzeyinde meydana gelen değişiklikler.



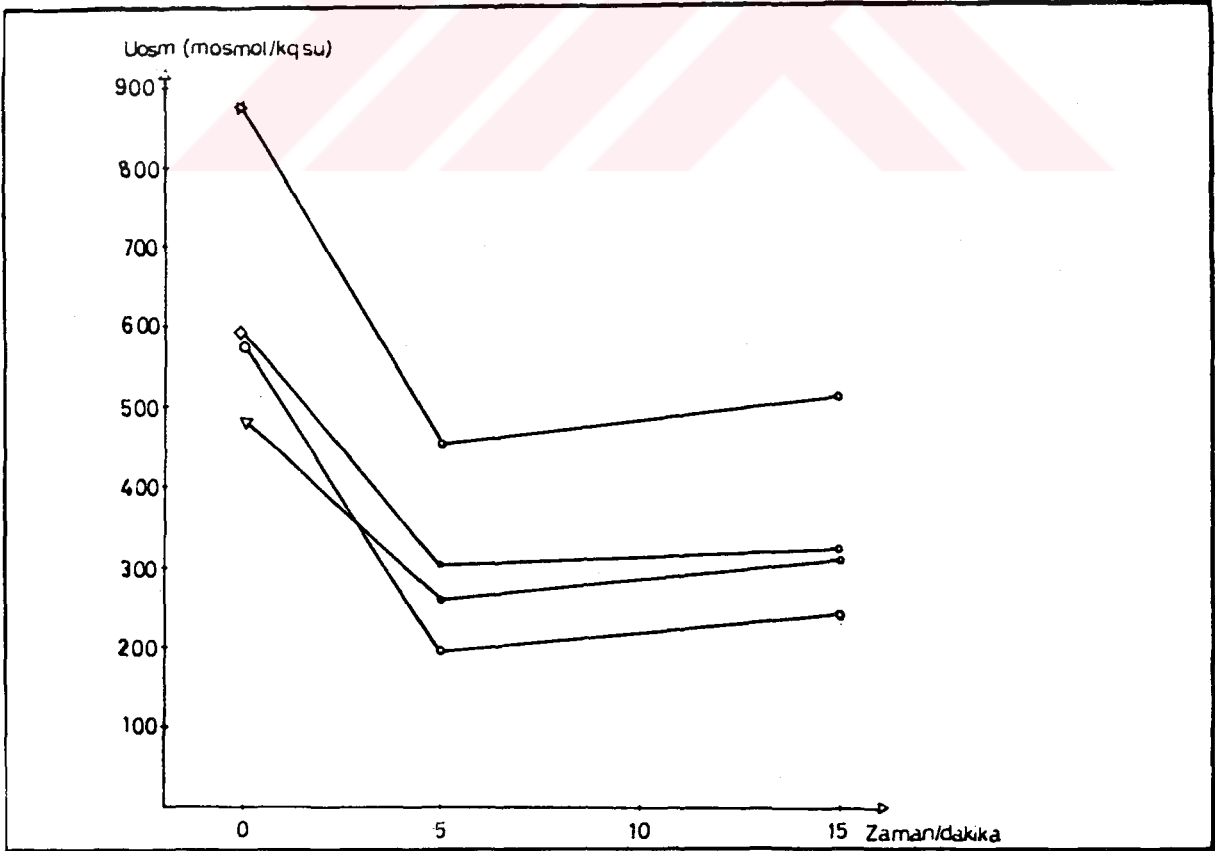
ŞEKİL 3 : Atrial ekstraktın 4 ayrı grup sıçana verilmesi sonucu plazma potasyum düzeyinde meydana gelen değişiklikler.



ŞEKİL 4 : Atrial ekstraktın 4 ayrı grup sıçana verilmesi sonucu idrarla atılan potasyum düzeyinde meydana gelen değişiklikler.



ŞEKİL 5 : Atrial ekstraktın sıçanlara enjeksiyonundan sonra plazma osmolalitesinde oluşan değişimler.



ŞEKİL 6 : Atrial ekstraktın sıçanlara enjeksiyonundan sonra idrar osmolalitesinde görülen değişimler.

	U_{NaV} ($\mu Eq/L$)			U_{KV} ($\mu Eq/L$)			U_{osm} ($m_{os} mol/kg su$)		
	0	5	15	0	5	15	0	5	15
Grup I	159,2 \pm 4,57*	364 \pm 13,62**	332 \pm 10,73*	12,4 \pm 0,59**	27,65 \pm 1,13*	22,75 \pm 1,07	887 \pm 75,79*	450 \pm 53,81*	502 \pm 31,89*
Grup II	144,28 \pm 4,83	296,2 \pm 11,97*	275,14 \pm 18,09*	10,94 \pm 0,90*	23,84 \pm 0,49*	17,11 \pm 0,91*	568,42 \pm 41,28	181,56 \pm 17,52	245,12 \pm 25,35**
Grup III	144,80 \pm 4,57	284,8 \pm 33,21	260,6 \pm 19,06	11,2 \pm 1,12	21,44 \pm 1,05	20,1 \pm 0,91	572,6 \pm 53,35	302,05 \pm 17,21	306,23 \pm 35,36
Grup IV	136 \pm 8,15*	249 \pm 9,03*	220 \pm 16,32**	7,67 \pm 0,35*	11,44 \pm 0,50*	8,94 \pm 0,35**	489,5 \pm 22,52	25993	32,45 334,75 \pm 15,20*

Tablo 1 : Elde edilen atrial ekstraktların Grup I.II.III. ve IV'e verilmesi sonucu elde edilen idrar örneklerindeki $Na^+ - K^+$ ve osmolaliteye ait ortalama değerler ve standart sapmalar.

U_{NaV} : idrarla atılan sodyum volümü

U_{KV} : idrarla atılan potasyum volümü

U_{osm} : idrarın osmolalite değeri.

* : $p < 0,01$

** : $p < 0,05$

	P _{Na} V (μEq/L)			P _K V (μEq/L)			P _{osm} (m _{os} mol/kg su)		
	0	5	15	0	5	15	0	5	15
Grup I	155±6,01*	306,45±10,76*	269,9±13,44**	6,18±1,66*	7,25±1,40*	7,02±1,29**	396,5±3,78*	317,17±4,02*	380,63±4,57*
Grup II	144,28±5,23**	296,2±21,06**	275,14±17,76*	5,55±1,46*	6,23±1,32	5,96±1,04*	389,1±11,22**	332,88±10,02	378,98±10,9
Grup III	143,3±6,04	271,1±13,41	252,2±13,28	5,22±0,65	5,84±1,33	5,42±1,47	384±3,69	336±5,53	376,24±4,15
Grup IV	136,2±6,97*	249,1±5,14	220±26,89	5,14±0,84*	5,63±1,52*	5,27±1,42*	360,50±10,33**	319,55±14,03*	355,85±12,8

Tablo 2 : Elde edilen atrial ekstraktların Grup I.II.III ve IV'e verilmesi sonucu elde edilen plazma örneklerindeki Na⁺-K⁺ ve osmolaliteye ait ortalama değerler ve standart sapmalar.

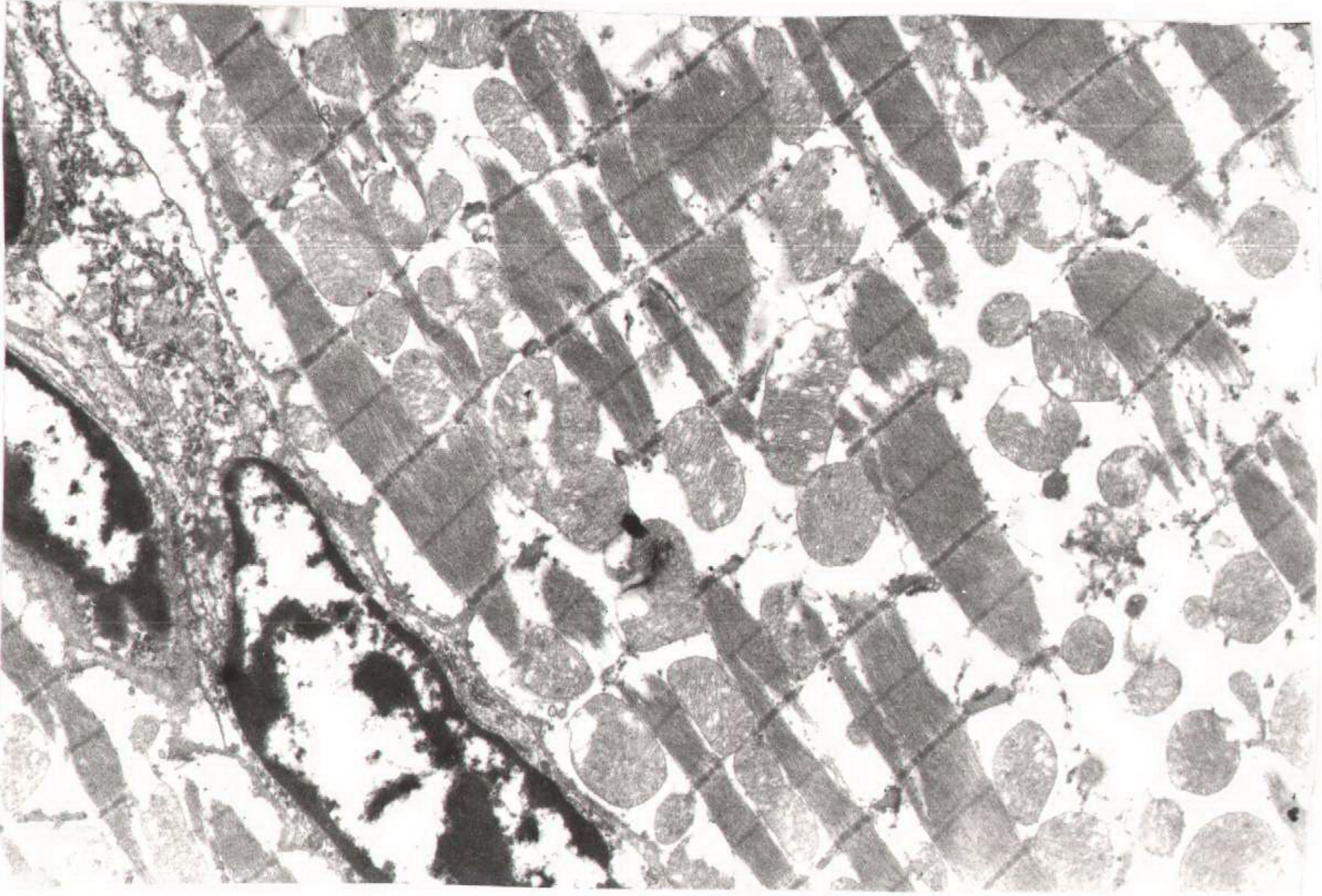
P_{Na}V : Plazma sodyum volümü

P_KV : Plazma potasyum volümü

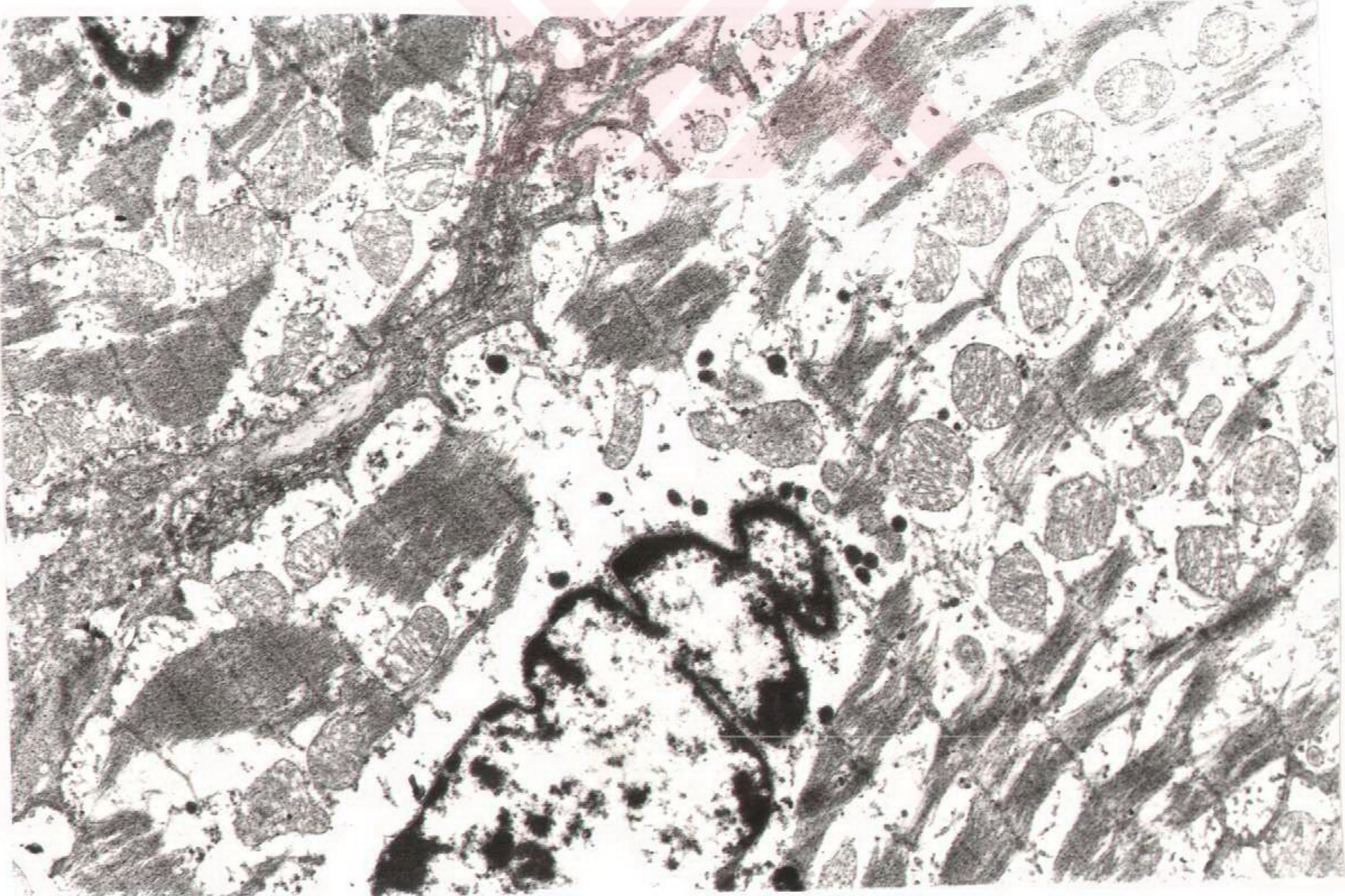
P_{osm} : Plazma osmolalitesi.

* : p < 0,01

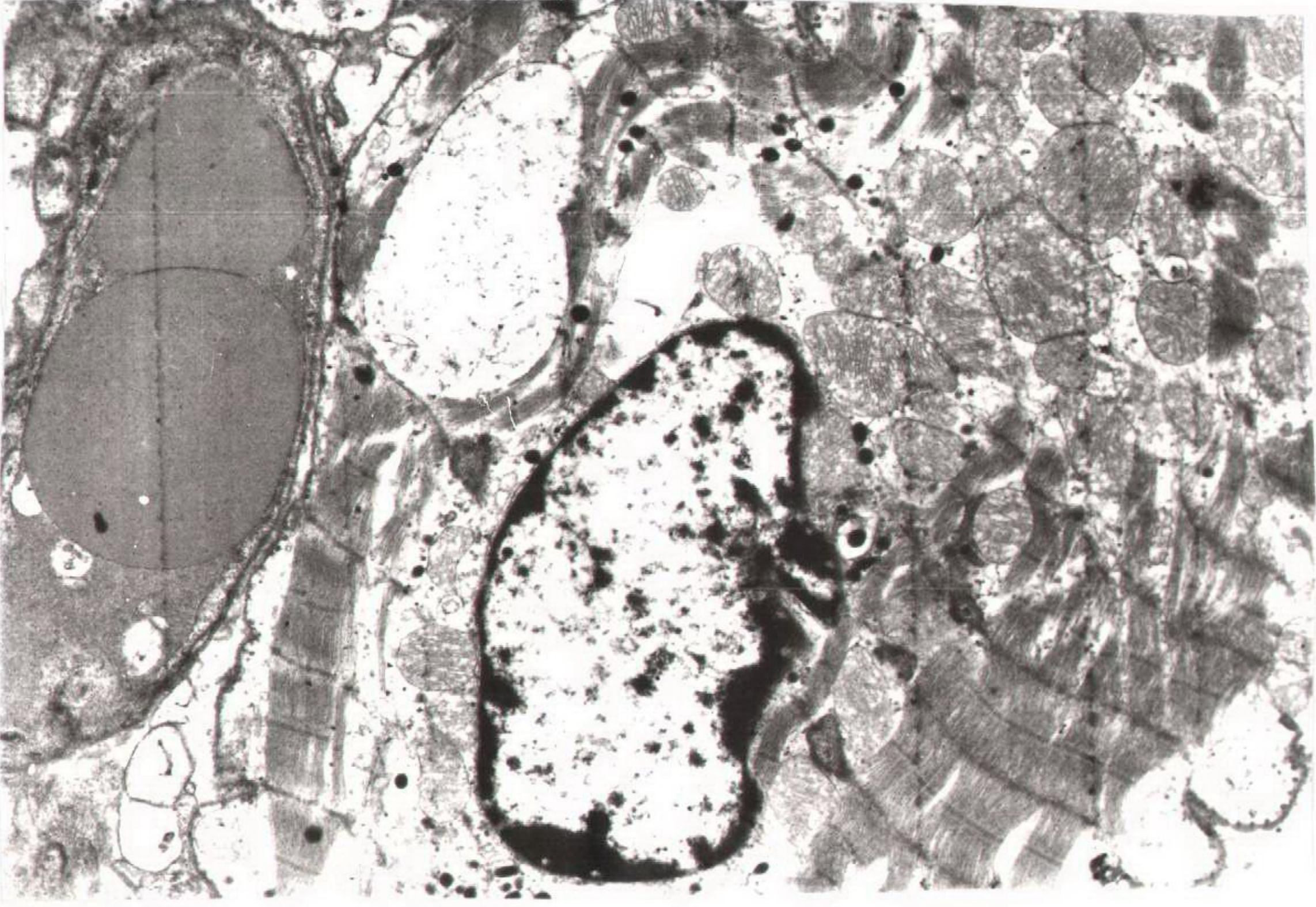
** : p < 0,05



RESİM 1 : Koyun ventrikülünden elde edilen kas hücresi.(X10000)



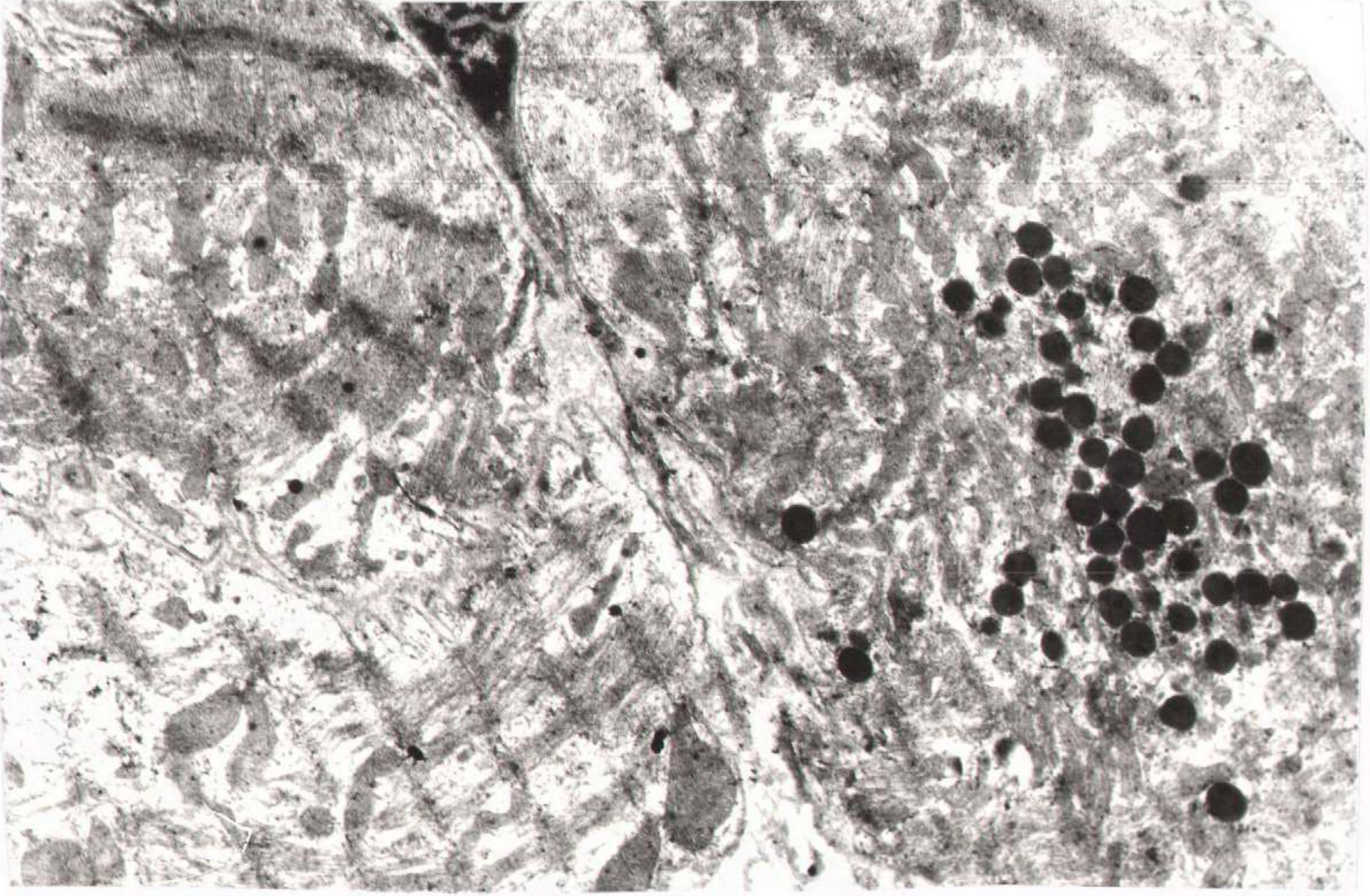
RESİM 2 : Koyunların sol atriumundan elde edilen kas hücresi.(X10000)



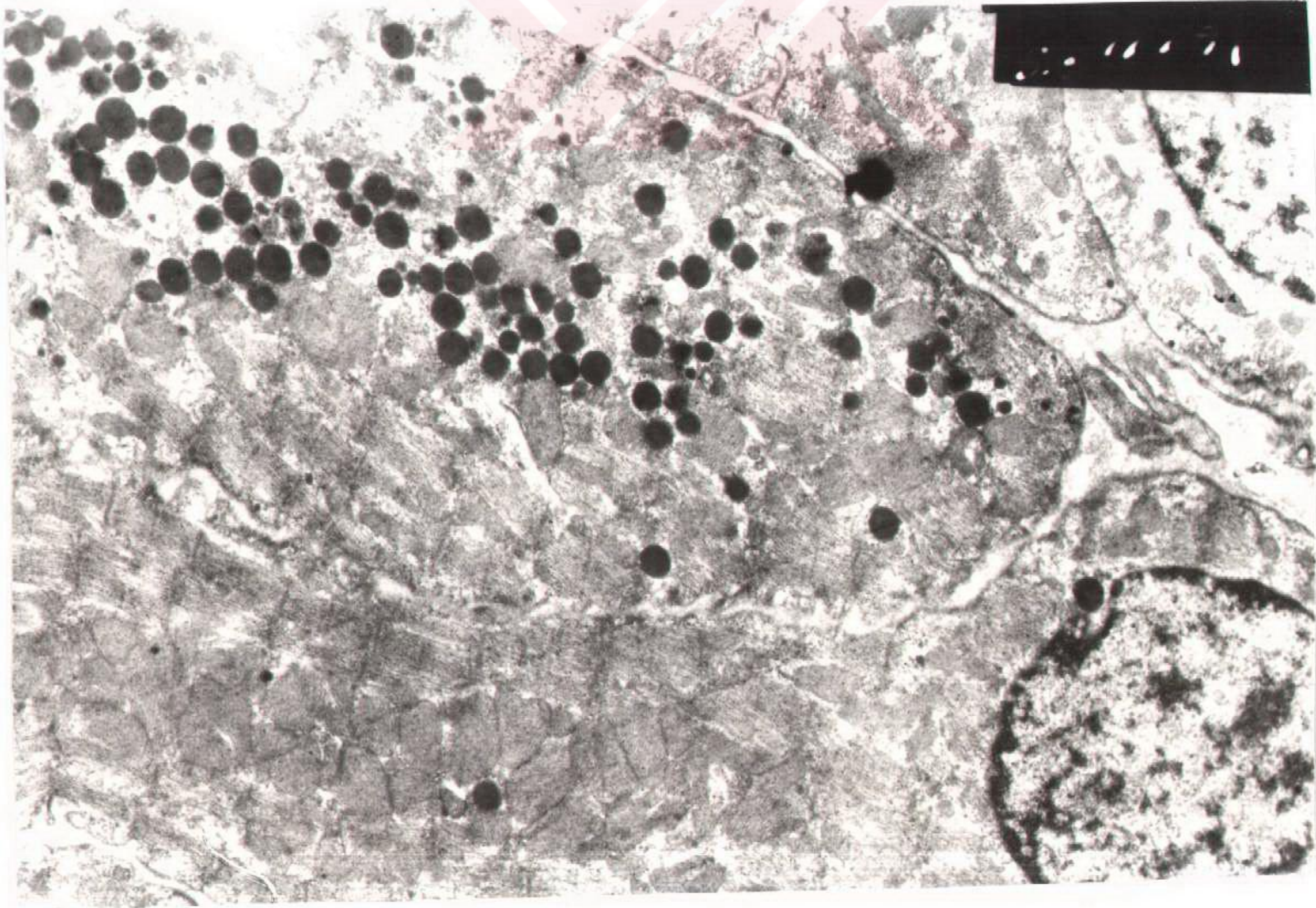
RESİM 3 : Koyunların sağ atriumundan elde edilen kas hücresi. (X10000)



RESİM 4 : Sıçanların sol atriumundan elde edilen kas hücresi. (X10000)



RESİM 5 : Sıçanların sağ atriumundan elde edilen kas hücresi.($\times 100000$)



RESİM 6 : %4 tuz ilave edilmiş yemle beslenen sıçanlardan elde edilen atrial kas hücresi.($\times 10000$)

TARTIŞMA

Memelilerde kardiak atrial kas dokusunun ANF olarak adlandırılan güçlü bir natriuretik madde içerdiği bilinmektedir (23,25). Son zamanlarda ANF'nin yalnızca atriumdan salgılanmadığı aynı zamanda böbrek, beyin, parasempatik ganglion, akciğer, adrenal bez, ince barsak, hipofiz, karaciğer ve göz gibi çeşitli dokularda bulunduğu tesbit edilmiştir (32,55, 84,105,118). Atrial ekstraktın intravenöz enjeksiyonunun hızlı ve geçici olarak natriuresis, diuresis ve kaliuresis'e sebep olduğu ve böylece ekstraselluler sıvı volümünün düzenlenmesinde önemli bir rol oynadığı bilinmektedir (5,16,53). Ekstraselluler sıvı volümü ve Na^+ - K^+ dengesinin bozulmasının, hipertansiyon, karaciğer hastalıkları, kalp ve böbrek yetmezliğine sebep olduğu düşünülmektedir (35,45,85). DEğişik çalışmalarda ANF'nin etkisinin enjeksiyondan sonraki ilk 5-6 dakikada en yüksek seviyeye ulaştığı 20 dakika sonra ise etkisinin kaybolduğu belirtilmiştir (68,96, 115). Na^+ - K^+ dengesi ve ekstrasellüler sıvı volümünün düzenlenmesinde ANF'nin etkili olduğunun tesbit edilmesinden sonra ANF ile ilgili çalışmalar artmıştır.

Bugüne kadar birçok araştırmacı değişik yöntemler kullanarak hazırladıkları ekstraktı ya da sentetik ANF'yi değişik dozlarda çeşitli ırktan hayvanalar vererek ANF'nin etkilerini incelemişlerdir.

Bu çalışmada da koyunlardan elde edilen atrial ekstraktın sıçanlara ve sıçanlardan elde edilen ekstraktın yine aynı türdeki sıçanlara verilerek etkileri araştırılmıştır. Bu amaçla koyunlardan elde ettiğimiz atrial ekstraktı sıçanlara verdikten 5 dakika sonra plazmadaki Na^+ düzeyi %89,45, K^+ düzeyi %11,88 oranında artarken osmolalite değerinde %12,5 oranında düşme olduğu tesbit edilmiştir. İdrar örneklerinde ise Na^+ atılımı %96,96, K^+ atılımı %91,42 artarken osmolalitede %47,25 oranında düşme olduğu belirlenmiştir. Enjeksiyondan 15 dakika sonra ise normal değerlere göre plazma Na^+ düzeyindeki artış %7,45'e, K^+ %7,74 inmiştir. Osmolalite ise normale göre %6,18'lik bir artma ve bunun yanında idrarla atılan Na^+ miktarında %9,43, K^+ miktarında %6,38 oranında düşmeye karşılık osmolalite de

%35,01 oranında artış ile bazal düzeylerine yaklaşıma gözlenmiştir (Tablo 1).

Raine ve arkadaşları (98) Sprague-Dawley ırkı sıçanlara elde ettikleri atrial ekstraktı verdikten sonra Na^+ atılımında %225, K^+ atılımında %84 oranında bir artış olduğunu bildirmişlerdir. Atlas ve arkadaşları da (4) atrial ekstraktın intravenöz enjeksiyonundan sonra Na^+ atılımından %810, K^+ atılımında %231 oranında artma olduğunu tesbit etmişlerdir. Vaughan ve grubu da (127) tavşanlardan elde ettikleri atrial ekstraktı New Zealand beyaz ırk tavşanlara intravenöz olarak verdikten 5 dakika sonra Na^+ atılımında %75,9 oranında bir yükselme gözlerken 15 dakika sonra %52,7 oranında düşme tesbit etmişlerdir.

Belirttiğimiz değerler Atlas ve Rain'in (4,98) belirttikleri değerlere göre düşük olmakla birlikte Vaughan (127) ile büyük bir yakınlık göstermektedir. Ancak atrial ekstraktın enjeksiyonu ile ANF etkisinin deneysel demostrasyonu literatürlerle uygunluk içinde bulunmaktadır.

ANF 'nin tür spesifik olup olmadığını tesbit etmek için hem koyunlardan hem de sıçanlardan elde edilen atrial ekstraktlar sıçanlara verilerek Na^+ - K^+ atılımı ve osmolalite değerleri tesbit edildi. Sıçanlardan elde edilen atrial ekstraktların sıçanlara enjeksiyonundan 5 dakika sonra plazmadaki Na^+ düzeyinde %93,02, K^+ düzeyinde %12,32'lik bir artış gözlenirken osmolalite değerinde %14,45'lik bir düşme tesbit edilmiştir. İdrarda ise Na^+ atılımı %106,5 K^+ atılımı %113,2 artarken osmolalite %68,06 oranında düşme göstermiştir. Enjeksiyondan 15 dakika sonra ise plazma Na^+ düzeyi %9,06, K^+ düzeyi %4,43 oranında normal değerlere yaklaşmıştır. Osmolalitede %8,45 artma tesbit edilmiştir. İdrarla atılan Na^+ miktarı %6,06, K^+ miktarı %39,82 düşme gösterirken osmolalitede %35,01'lik bir yükselme gözlenmiştir (Tablo 3).

Değişik araştırmacılar, yaptıkları deneylerde sentetik ANF'yi ya da atrial ekstraktları değişik tür hayvanlara vererek ANF'nin etkilerini gözlemişlerdir. Bu amaçla yapılan bir çalışmada sentetik insan ANF'si,

kurbağalara verilerek ANF'nin etkileri araştırılmış ve insan ANF'sinin kurbağada etkili olduğu tesbit edilmiştir (103).

Soejima'da (114) anestezi edilmiş spraque-Dawley ırk, sıçanlara değişik dozlarda sentetik insan ANF (4-28)'sini vererek Na^+ atılımında %143,4 oranında bir artma gözlemişlerdir (19). Maack'da (75) köpeklere insan ANF'si vererek Na^+ - K^+ atılımına ve osmolaliteye etkilerini araştırmışlardır. Sentetik insan ANF'sinin enjeksiyondan sonra idrarla atılan Na^+ düzeyi %392, K^+ düzeyi %141,21 artarken osmolalite değerinin %79,44 oranında düştüğünü gözlemiştir. Bir başka çalışmada da (75) anestezi edilmiş köpeklere sentetik insan ANF'sinin Na^+ - K^+ atılımına ve osmolaliteye etkileri incelenmiş ve Na^+ atılımında %400, K^+ atılımında %133,3'lük bir artış, osmolalitede %80 bir düşüş olduğu belirtilmiştir.

Bu sonuçlara göre ANF'nin etkisinin tür spesifik olmadığı tesbit edilmiştir. Yaptığımız çalışmada da hem sıçan hem de koyun ekstraktlarının sıçanlara verilmesinden sonra aynı etkiyi gösterdikleri görülmüştür. Aradaki küçük farklılığında ANF miktarının türler arasında farklı miktar da bulunmasından kaynaklanabileceği düşünülmektedir. Bu özellik yapılan mikroskobik şekillerde de açıkça gözlenmiştir.

Tüketilen Na^+ miktarına göre de ANF düzeylerinin değiştiği bilinmektedir. Bu amaçla bu çalışmada 3 değişik grup kullanıldı. 1. gruba normal miktarda tuz ve mineral içeren yem, 2. gruba normale göre %4 tuz ilave edilmiş yem ve 3. gruba tuzsuz yem verildi. Tuz ilave edilmemiş yem uygulanmasından sonra plazma sodyum düzeyi kontrol örneklerinde 143,3 $\mu\text{Eq/L}$ enjeksiyondan 5 dakika sonra 271,1 $\mu\text{Eq/L}$, 15 dakika sonra 252,2 $\mu\text{Eq/L}$ olurken tuz ilavesinden sonra sırasıyla 155, 306, 269 $\mu\text{Eq/L}$ olduğu gözlenmiştir. İdrar örneklerinde ise tuzsuz yemden sonra 144, 284, 260 $\mu\text{Eq/L}$ tuzlu yem uygulamasından sonra 159,364,332 $\mu\text{Eq/L}$ olarak tesbit edilmiştir. İdrar ve plazma örneklerinde %4 tuz ilave edilmiş grupta Na^+ değerlerinin diğer gruplara göre daha yüksek olduğu tuzsuz yem verilen grupta ise bu değerlerin çok düşük olduğu görülmüştür (Tablo 3). Potasyum düzeyleri de tuz ilavesi ile artmaktadır. Alınan plazma örneklerinde enjeksiyondan önce

ve 5 - 15 dakika sonra K^+ düzeyleri 6,18, 7,25, 7,02 $\mu\text{Eq/L}$ idrar örneklerinde 12,4 , 27,65 , 22,75 $\mu\text{Eq/L}$ olarak tesbit edilmesine karşılık tuzsuz yem verilmesinden sonra plazma örneklerinde 5,22, 5,84, 5,42 $\mu\text{Eq/L}$ idrar örneklerinde 11,2, 21,44, 20,1 $\mu\text{Eq/L}$ olduğu gözlenmiştir. Yemlere potasyum ilave etmediğimiz halde tuz ilavesiyle potasyum miktarının artmasının nedeni olarak Na^+ atılımının artmasıyla K^+ ve diğer iyonların atılımının da arttığı düşünülmektedir. Bunu çeşitli araştırmalar da (6,7) desteklemektedir.

Osmolalite değerlerinin de tuz tüketimiyle değiştiği gözlenmiştir. Tuz ilave edilmiş yem verilmesinden sonra özellikle idrar örneklerinde osmolalite değeri diğer gruplara göre belirgin şekilde düşme göstermiştir (Tablo 3). ANF reninangiotensin-aldosteren sistemini inhibe ederek Na^+ atılımını arttırdığından daha etkili bir şekilde ADH, inhibe ederek su atılımını arttırmaktadır. Böylece osmolalite değeri ANF'nin etkisi ile düştüğü gözlenmiştir. Belirtilen bu sonuçların literatürlerle uygunluk içinde bulunduğu tesbit edilmiştir.

Sagnella ve arkadaşlarının (102) yaptıkları bir çalışmada da sağlıklı insanlara tuz ilave edilmemiş bir diyet uygulamasından sonra plazma Na^+ düzeyi 138,7 mmol/l iken tuz ilave edilmiş bir diyet uygulamasından sonra ise 140,4 mmol/l olduğunu tesbit etmişlerdir. Aynı zamanda yapılan değişik çalışmalarda (108) %5 glikoz ya da %0,9'luk bir tuz yüklemesi bile ANF'nin plazma seviyelerini 4-5 kez arttırdığı belirtilmiştir. Yüksek tuz alımı ve tuzun akut infüzyonunun ANF seviyelerini 2-3 kat arttırdığı bildirilmektedir (91).

Tuz ilavesiyle ANF seviyelerindeki artış hayvanların genetik olarak tuza hassas ya da dayanıklı olup olmadığına göre değişebilmektedir. Bu amaçla 12 hafta süreyle %4 NaCl ilave edilmiş yem verilen sprague-Dawley ırkı sıçanlarda yapılan araştırma sonucunda atrial ekstraktın infüzyonu sırasında tuza hassas sıçanlarda Na^+ atılımı tuza dayanıklı olanlara göre %82,5 daha fazla olduğu tesbit edilmiştir. Tuza hassas sıçanlarda Na^+ diyeti ile ANF miktarının artmasının muhtemel bir nedeninin böbrekte Na^+ atılım eksikliğini karşılama amacı olduğu belirtilmektedir (57).

Yapılan elektron mikroskobu kesitlerinde de atriumların granül içermesine karşılık ventirüllerin granül içermediği tesbit edilmiştir (Resim 1). Granüllerin De Bold ve Cantin'in (23,13) belirttiği gibi nukleus etrafında yoğunlaşmış olduğu gözlenmiştir. Daha önceki çalışmalarda da granüllerin hayvan türleri arasında farklılık gösterdiği bildirilmiştir (17,18). Elde ettiğimiz kesitlerde de sıçan atriumlarının koyun atriumlarına göre daha fazla granül içerdiği ve granüllerin daha büyük olduğu tesbit edilmiştir (Resim 3,5). Aynı aANF miktarının sağ ile sol atrium arasında farklılık gösterdiği kabul edilmektedir. Gutkowska (50) sağ atriumda soldan 4, luor (83), 2-4, Cogan (13), 1,5-3 kez daha fazla granül içerdiğini belirtmişlerdir. Bu amaçla bu çalışmada koyun ve sıçanların hem sağ hem de sol atriumlarından elde edilen kesitlerde sağ atriumun daha fazla granül içerdiği belirlenmiştir.

Tüketilen sodyum miktarına göre atrial granüllerin bir artma gösterdiği bilinmektedir. Buna göre %4 tuz ilave edilmiş yem verilen sıçandan elde edilen kesitte granüllerin diğer kesitlere göre daha yoğun olduğu tesbit edilmiştir (Resim 6).

Histolojik bulgular da ANF'nin temel sentez ve salgı yerinin memelilerde atriumlar olduğunu ve Na^+ tüketiminin sentezi etkileyebileceğini bir kez daha vurgulamaktadır.

Gerek fizyolojik gerekse histolojik çalışmalar, koyun ve sıçanlar da temel ANF kaynağı olan atriumların granülleri içerdiğini göstermiştir. Koyunlardan elde edilen ekstraktın sıçanlara verilerek etkili olduğunun gözlenmesi ANF'nin tür spesifik olmadığını göstermiştir. Atriumlardan elde edilen ekstraktın böbrekte Na^+ ve K^+ atılımını arttırdığı buna karşılık osmolaliteyi düşürdüğü tesbit edilmiştir. Yapılan bu çalışmalara göre sodyum tüketimi artınca atrial granüllerin arttığı ve dolayısıyla ANF sentezinin hızlandığı gözlenmiştir. ANF, uzun yıllar natrivretik bir ajan olarak bir hipotez şeklinde düşünülen maddenin kesin olarak ortaya çıkarılmış ve kanıtlanmış şeklidir. Bu konudaki çalışmalar son 10 yılda yapılmış olmasına rağmen hala ANF konusunda henüz bilinmeyen birçok konu mevcuttur. Önümüzdeki yıllarda bu konuda daha kapsamlı çalışmaların çıkacağı ümit edilmektedir.

	Grup I	Grup II	Grup III	Grup IV
Sodyum	Plazma 97,67 - 13,52	93,02 - 9,06	89,45 - 7,45	69,92 - 11,08
Sodyum	İdrar 128,95 - 13,30	106,50 - 6,60	96,96 - 9,43	83,17 - 26,97
Potasyum	Plazma 17,47 - 3,27	12,32 - 4,33	11,88 - 7,74	9,67 - 6,83
Potasyum	İdrar 123,66 - 22,93	113,20 - 39,82	91,42 - 6,38	49,60 - 28,8
Osmolalite	Plazma 20,01 - 8,94	14,45 - 7,45	12,50 - 6,18	11,36 - 8,38
Osmolalite	İdrar 83,03 - 13,53	68,06 - 35,01	47,25 - 1,55	46,90 - 28,78

Tablo 3 : Elde edilen atrial ekstraktın Grup I.II.III. ve IV'e verilmesinden 5 ve 15 dakika sonraki artışların normale göre % olarak değişimi.

Ö Z E T

Bu çalışmada ANF'nin tür spesifik olup olmadığı ve ANF salgılanması ile diyet tuz düzeyleri arasındaki ilişkinin incelenmesi amaçlanmıştır. Tür spesifik özelliğinin araştırılması için koyunlardan elde edilen atrial ekstraktlar sıçanlara verilerek plazma ve idrar örneklerindeki Na^+ , K^+ ve osmolalite düzeyleri tesbit edilmiştir. Ayrıca, farklı diyet tuz düzeylerinin ANF salgılanmasındaki rolü, sıçanlara tuz içerikleri farklı yemler verilip plazma ve idrardaki Na^+ , K^+ miktarları ve osmolalite düzeylerindeki değişiklikler ölçülerek belirlenmiştir. Histolojik olarak elde edilen kesitlerde de atriumlardaki granüller incelenmiştir.

Koyunlardan elde edilen atrial ekstrakt sıçanlara verildiğinde plazma ve idrarda Na^+ , K^+ miktarları artarken osmolalite değerinin düştüğü gözlenmiştir. diyetteki tuz miktarının artmasıyla da idrar ve plazmada Na^+ - K^+ düzeyi kontrollere göre artmakta osmolalite ise düşmektedir. Mikroskopik çalışmalarda atrial granüllerin diyetteki tuz miktarına bağlı olarak arttığı belirlenmiştir.

Bu sonuçlara göre, ANF'nin etkisinin memelilerde tür spesifik olmadığı, organizmada tuz atılımını kontrol eden faktörün ANF olduğu ve bu faktörün diyetteki tuz miktarına büyük ölçüde bağlı olarak, idrar ve plazma Na^+ , K^+ ve osmolalite düzeylerine etki ettiği düşünülebilir.

SUMMARY

The aims of this study are to determine whether ANF is species specific and is there a relationship between the diet salt concentrations and ANF. To study the species specificity of ANF, sheep atrial extracts were injected into rats and the levels of Na^+ , K^+ and the osmolality in the plasma and urine were measured. The role of diet salt concentration in the production of ANF was studied as the rats fed by the food with different concentration of salt and the levels of Na^+ , K^+ and the osmolality of plasma and urine was measured. Histologically, the granules in the cells of atrium were studied.

Results showed that, when the sheep extracts injected into rats the urine Na^+ , K^+ level was increased whereas the osmolality was decreased. When the diet salt concentration increased, the plasma and urine Na^+ and K^+ level was increased whereas osmolality was decreased.

Histological studies showed an increase in number of atrial granules.

According to these results it is concluded that : The effect of ANF in mammals may not be specific; the factor which controls the salt excretion is probably ANF; and its effect on the plasma and urine Na^+ , K^+ and osmolality level is probably depend on ANF.

LİTERATÜR LİSTESİ

- 1 - Ahmad, S., Kenny, M., Scribner, B.H., (1986) : Hypertensiyon and a digoxin-like substance in the plasma of dialysis patients : Possible marker for a natriuretic hormone. Clin. Physiol. Biochem. 4:210-216.
- 2 - Akimoto, K., Miyata, A., Kangawa, K., Koga, Y., Hayakawa K., Matsuo, H.,(1988) : Molecular forms of atrial natriuretic peptide in the atrium of patients with cardiovascular disease. J.Clin. End. Metab. 67(1) : 93-97.
- 3 - Atarashi, K., Mulrow, P., Saenz, R.F., Snajdar, R., Rapp, J.,(1984) : Inhibition of aldosterone production by an atrial extract. Sci. 244: 992-994.
- 4 - Atlas, S.A., Kleinert, H.D., Camargo, M.J., danuszewicz A., Sealey, J.E., Laragh, J.H., Schilling, J.W., Lewicks, J.A., Johnson, L.K., Maack, T., (1984) : Purification, sequencing and synthesis of natriuretic and vasoactive rat atrial peptide. Nature 309 : 217-219.
- 5 - Baines, A.D., De Bold, A.J., Sonnenberg, H., (1983) : Natriuretic effect of atrial extract on isolated perfused rat kidney Can.J. Physiol. Pharmacol. 61: 1462-1466.
- 6 - Blaustein, M.F., Hamlyn, J.M., (1983) : Role of a natriuretic factor in essential hypertension : An hypothesis. Ann. Int. Med. 98(2) : 785-792.
- 7 - Blaustein, M.P., Hamlyn, J.M., (1984) : Sodium transport inhibition, cell calcium, and hypertension. Am.J. Med. 5: 45-59.
- 8 - Bodola, F., Benedict, C.R., (1988) : Rapid, simplified radioimmunoassay of Arginine-vasopressin and atrial natriuretic peptide in plasma.Clin. Chem. 35(4) : 970-973.

- 9 - Borenstein, H.B., Cupples, W.A., Sonnenberg, H., Veress, A.T., (1983):
The effect of a natriuretic atrial extract on renal haemodynamics and
urinary excretion in anaesthetized rats. J. Physiol. 334: 133-140.
- 10- Brands, M.W., Freeman, R.H., (1988) : Aldosterone and renin inhibition
by physiological levels of atrial natriuretic factor. Am.J.physiol.
254 (6 part 2) : R₁₀₁₁-R₁₀₁₆.
- 11- Buckalew, V.M., (1981) : Salt, natriuretic hormone and hypertension.
Ann. Int. Med. 95(4) : 511-512.
- 12- Buckalew, V.M., Morris, M., Hamilton, R.W., (1987) : Atrial natriuretic
factor. Adv. Intern. Med. 32: 1-26.
- 13- Cantin, M., Genest, J., (1986) : The heart as an endocrine gland.
Bibliography. 254(2) : 76-81.
- 14- Chabot, J.G., Morel, G., Isles, M.B., deandel, L., Heisler, S.,(1988):
ANF and exocrine pancreas : Ultrastructural autoradiographic localiza-
tion in acinar cells. Am.J.Physiol 254(3 part 1) : E₃₀₁-E₃₀₉.
- 15- Chien, Y.W., Barbee, R.W., Macphee, A.A., Flohlich, E.D., Trippodo,
N.C., (1988) : Increased ANF secretion after volume expansion is
preserved in rats with heart failure.Am.J.physiol. 254(2 part 2) :
R₁₈₅-R₁₉₁.
- 16- Chimoskey, J.E., Spielman, W.S., Brandt, M.A., Heidemann, S.R., (1984):
Cardiac atria of BIO 14,6 Hamsters are deficient in natriuretic factor.
Sci. 223: 820-821.
- 17- Cogan, M.G., (1985) : Atrial natriuretic factor ameliorates chronic
metabolic alkalosis by increasing glomerular filtration. Sci.229:
1405-1407.
- 18- Cogan, M.G., (1986) : Atrial natriuretic factor. West. J.Med. 144 :
591-595.

- 19- Cowley, A.W., Anderas, P.R., Skelton, M.M., (1988) : Acute saline loading in normal and bilaterally atrial-resected conscious dogs. Am.J.physiol. 255(1 part 2) : H₁₄₅-H₁₅₂.
- 20- Crabos, M., Ausiello, D.A., Hauptert, G.T., Cantiella, H.F., (1988): Atrial natriuretic peptide regulates release of Na⁺-K⁺-ATPase inhibitor from rat brain. Am.J.physiol. 254 (6 part 2) : F₉₁₂-F₉₁₇.
- 21- Cuche, J.L., Selz, F., Ruget, G., Jondeau, G., Guedon, J., (1983) : Is dopamine a physiological natriuretic hormone in the dog. Clin. Sci. 65 : 479-486.
- 22- Currie, M.G., Geller, D.M., Cole. B.R., Boylon, J.G., Yusheng, W., Holmberg, S.W., Needleman, P., (1983) : Bioactive cardiac substances: Potent vasorelaxant activity in mammalian atria. Sci. 221:71-73.
- 23- De Bold, A.J., (1978) : Morphometric assessment of granulation in rat atrial cardiocytes : Effect of age. J.Mol.Cel. Cardiology. 10 :717-724.
- 24- De Bold, A.J., Borenstein, H.B., Veress, A.T., Sonnenberg, H., (1981): A rapid and potent natriuretic response to intravenous injection of atrial myocardial extract in rats. Life Sci. 28:89-94.
- 25- De Bold, A.J., (1982): Atrial natriuretic factor of the rat heart. Studies on isolation and properties Proc. Soc. Exp.Biol. Med. 170: 133-138.
- 26- De Bold, A.J., Flynn, T.G., (1983) : Cardionatrin I : A novel heart peptide with potent diuretic and natriuretic properties. Life Sci. 33:297-302.
- 27- De Bold, A.J., (1985) : Atrial natriuretic factor : A hormone produced by the heart. Sci. 230 : 767-769.

- 28- Deghenghi., P.R., Lausanne, S.A., (1986) : Les atriopeptides, hormones du coeur. Biomed. Pharmacotherapy. 40: 83-84.
- 29- Deray, G., Branch, R.A., Herzer, W.A., Ohnishi, A.J., Jackson, E.K., (1987) : Effects of atrial natriuretic factor on hormone-Induced renin release. Hypertension. 9 : 513-517.
- 30- De Wardener, H.E., Macgregor, G.A., (1982) : The natriuretic hormone and essential hypertension. Lancet. June 26 : 1450-1454.
- 31- De Wardener, H.E., Macgregor, G.A., (1983) : The relation of a circulating sodium transport inhibitor (the natriuretic hormone?) to hypertension. Medicine. 62(5) : 310-326.
- 32- Duggan, K.A., Macdonald, G.J., (1987) : Vasoactive intestinal peptide. A direct renal natriuretic substance. Clin. Sci. 72 : 195-200.
- 33- Düzgünes, O., Kesici, T., ve Gürbüz, F., (1983) : İstatistik Metodları. Ankara Ün. Ziraat Fak. Yayınları, 861.
- 34- Edwards, B.S., Ackermann, D.M., Reeder, G.S., Wold, L.E., Burnett, J.C., (1988) : Identification of atrial natriuretic factor within ventricular tissue in hamsters and humans with congestive heart failure. J.Clin. Invest. 81 : 82-86.
- 35- Epstein, M., (1981) : Natriuretic hormone and the sodium retention of cirrhosis. Gastroenterology. 81 : 395-399.
- 36- Ergene, N., (1985) : Fizioloji, Cilt 1, İ.Ü.Veteriner Fak. Yayınları, İstanbul.
- 37- Eskay, R., Grojec, Z., Haass, M., Dave, J.R., Zamır, N., (1986) : Circulating atrial natriuretic peptides in conscious rats : Regulation of release by multiple factor. Sci. 232 : 636-639.

- 38- Firth, J.D. Raine, A.E.G., Ledingham, J.G.G., (1988) : Low concentrations of ANP cause pressure-dependent natriuresis in the isolated kidney. *Am.J.Physiol.* 254 (2 part 2) : F₃₉₁-F₃₉₆.
- 39- Flier, J.S., Underhill, L.H., (1985) : Atrial natriuretic hormone, The renin-aldosterone axis, and blood pressure-electrolyte homeostasis. *New Eng.J.Med.* 313 (21) : 1330-1340.
- 40- Fyhrquist, F., Tikkanen, I., (1985) : Antidiuretic hormone and atrial natriuretic peptide in congestive heart failure. *Lancet*, 1:545-549.
- 41- Ganguli, M., (1978) : Dahl S rats have increased natriuretic factor in atria but are markedly hyporesponsive to it. *Kidney Int.* 25 : 328.
- 42- Gerbes, A.L., Arendt, R.M., Schnizer, W., Silz, S., dünst, D., Zähringer, J., Paumgartner, G., (1986) : Regulation of atrial natriuretic factor release in man : Effect of water immersion. *Klin. Woch.* 64 : 666-667.
- 43- Gerzer, R., Heim, J.M., Schütte, B., Well, J., (1987) : Cellular mechanisms of action of atrial natriuretic factor. *Klin. Woch.* 65 (Suppl VIII) : 109-114.
- 44- Grammer, R.T., Fukumi, H., Inagami, T., Misono, K.S., (1983) : Rat atrial natriuretic factor Purification and vasorelaxant activity. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 116(2) : 696-703.
- 45- Graves, S.W., Williams, G.H., (1987) : Endogenous digitalis-like natriuretic factors. *Ann. Rev. Med.* 38 : 433-444.
- 46- Gutkowska, J., Thibault, G., Milne, R.W., Januszewicz, P., Schiller, P.W., Cantin, M., Genest, J., (1984) : Radioimmunoassay of atrial natriuretic factor (ANF) in rat atria. *Proc. Soc. Exp.Bio.Med.* 176 : 105-108.

- 47- Gutkowska, J., Horky, K., Thibault, G., Januszewicz, P., Cantin, M., Genest, J., (1984) : Atrial natriuretic factor is a circulating hormone. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 125 (1) : 315-323.
- 48- Gutkowska, J., Thibault, G., Januszewicz, P., Cantin, M., Genest, J., (1984) : Direct radioimmunoassay of atrial natriuretic factor. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 122(2) : 593-601.
- 49- Gutkowska, J., Bourassa, M., Roy, D., Thibault, G., Garcia, R., Cantin, M., Genest, J., (1985) : Immunoreactive atrial natriuretic factor (ir-ANF) in human plasma. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 128 (3) : 1350-1357.
- 50- Gutkowska, J., Schiffrin, E.L., Cantin, M., Genest, J., (1986) : Effect of dietary sodium on plasma concentration of immunoreactive atrial natriuretic factor in normal humans. *Clin. Invest. Med.* 9 (4) : 222-224.
- 51- Guyton, A.C. (1976) : Textbook of medical Physiology 5 th. Edition W.B. Saunders. Company. Philadelphia, London, Toronto.
- 52- Hamet, P., Tremblay, J., Pang, S.C., Garcia, R., Thibault, G., Gutkowska, J., Cantin, M., Genest, J., (1984) : Effect of native and synthetic atrial natriuretic factor on cyclic GMP. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 123 (2) : 515-527.
- 53- Heidreder, E., Schafferhans, K., Schramm, D., Götz, R., Heidland, A., (1986) : Toxic renal failure in the rat : Beneficial effects of atrial natriuretic factor. *Klin. Woch.* 64 (suppl VI) : 78-82.
- 54- Herrmann, H.C., Palacios, I.F., William, G., Scheer, J.M., Fifer, M.A., (1988) : Effects of atrial natriuretic factor on coronary hemodynamics and myocardial energetics in patients with heart failure. *Am. Heart. J.* 115 (6) : 1232-1237.

- 55- Hildebrandt, D., Banks, R., (1988) : Effect of atrial natriuretic factor on renal function in rats with nephrotic syndrome. *Am. J. Physiol.* 254 (2 part 2) : F₂₁₀-F₂₁₇.
- 56- Hirar, N., Yanaihara, T., Nakayama, T., Ishibashi, M., Yamaji, T., (1988) : Plasma levels of atrial natriuretic peptide during normal pregnancy and inpregnancy complicated by hypertension. *Am.J.Obstet. Gynecol.* 159 (1) : 27-31.
- 57- Hirata, Y., Ganguli, M., Tobian, L., Iwai, J., (1984) : Dahls rats have increased natriuretic factor in atria but are markedly hyporesponsive to it. *Hypertension.* 6 (Suppl I) : I₁₄₈-I₁₅₅.
- 58- Hirata, Y., Serizawa, T., Kohmoto, O., Sugimoto, T., Matsuoka, H., Lizuka, M., Ishii, M., Sugimoto, T., Miyata, A., Kangawa, IL., Matsuo, H., (1988) : Estimation of the secretion rate of atrial natriuretic peptide from the coronary sinus in coronary artery disease. *Am. J. Cardiology.* 62 : 56-58.
- 59- Huang, C.L., Liwicki, J., Johnson, L.IL., Logan, M.G., (1985) : Renal mechanism of action of rat atrial natriuretic factor. *J. Clin. Invest.* 75 : 769-773.
- 60- Jamieson, J.D., Palade, G.E., (1964) : Specific granules in atrial muscle cells. *J. Cell. Biol.* 23 : 151-172.
- 61- Jandhyata, B.S., Ansar, A.F., (1986) : Elevation of sodium levels in the cerebral ventricles of anaesthetized dogs triggers the release of an inhibitor of ouabain-sensitive sodium-potassium-ATPase into the circulation. *Clin.Sci.* 70 : 103-110.
- 62- Kangawa, K., Matsuo, H., (1984) : Purification and complete amino acid sequence of α -human atrial natriuretic polypeptide (α -hANP). *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 118 (1) : 131-139.

- 63- Keeler, R., Azzarolo, A.M., (1983) : Effects of atrial natriuretic factor on renal handling of water and electrolytes in rats. *Can.J. Physiol. Pharmacol.* 61 : 996-1002.
- 64- Kleinert, H.D., Maack, T., Atlas, S.A., Januszewicz, A., Sealey, J.E., Laragh, J.H., (1984) : Atrial natriuretic factor inhibits angiotensin, norepinephrine, and potassium-induced vascular contractility. *Hypertension*. 6 (Suppl I) : I₁₄₃-I₁₄₇.
- 65- Kramer, H.J., Lichardus, B., (1986) : Atrial natriuretic hormones thirty years after the discovery of atrial volume receptors. *Klin. Woch.* 64 : 719-731.
- 66- Koeh, J.A., Norman, J.A., Jones, B.N., Lesueur, L., Sakane, Y., Ghai, R.D., (1987) : Degradation of atrial natriuretic factor by kidney cortex membranes, *J.Biol. Chem.* 262 (24) : 11623-11627.
- 67- Kuchel, O., Gutkowska, J., Buv, N.T., Cantin, M., Genest, J., (1987) : Responses of plasma immunoreactive atrial natriuretic factor, aldosterone and urinary dopamine to salt-loading in a patient with severe Idiopathic edema. *Horm. Metabol. Res.* 19 : 45-46.
- 68- Kuribayashi, T., Nakazato, M., Tanaka, M., Nagamine, M., Kurihara, T., Kangawa, K., Matsuo, H., (1985) : Renal effects of human α -atrial natriuretic polypeptide. *New Eng. J. Med.* 312 (22) : 1456-1457.
- 69- Ladenson, P.W., Bloch, K.D., Seidman, J.G., (1988) : Modulation of atrial natriuretic factor by thyroid rat atria and ventricles. *Endocrinology*. 123 (1) : 652-657.
- 70- Lang, R.E., Thölken, H., Ganten, D., Luft, F.C., Ruskoaho, H., Unger, T.H., (1985) : Atrial natriuretic factor- a circulating hormone stimulated by volume loading. *Nature*. 314 : 264-266.

- 71- Laragh, J.H., (1985) : Atrial natriuretic hormone. The renin-aldosterone axis, and blood pressure electrolyte homeostasis. *New.Eng.J.Med.* 313 (21) : 1330-1340.
- 72- Levin, E.R., Weber, M.A., Mills, S., (1988) : Atrial natriuretic factor induced vasodepression occurs through central nervous system. *Am.J.Physiol.* 254 : H₆₁₆-H₆₂₂.
- 73- Linden, R.J., Knapp, M.F., (1988) : Is atrial natriuretic peptide really a hormone? *Br.Heart.J.* 56 : 299-301.
- 74- Luft, F.C., Lang, R.E., Ruskoaho, H., Sterzel, R.B., Unger, T., Ganten, D., (1987) : Cardiovascular and renal effects of atrial natriuretic factor. *Adv.Nephrol.* 16 : 37-52.
- 75- Maack, T., Marion, D.N., Camargo, M.J.F. Illeinert, H.D., Laragh, J.H., Vaughan, E.D., Atlas, S.A., (1984) : Effects of auriculin (Atrial natriuretic factor) on blood pressure function, and the renin-aldosterone system in dogs. *Am.J.Med.* 77 : 1069-1075.
- 76- Maack, T., Camargo, M.J.F., Kleinert, H.D., Laragh, J.H., Atlas, S.A., (1985) : Atrial natriuretic factor : structure and functional properties. *Kidney Int.* 27 : 607-615.
- 77- Maki, M., Takayanagi, R., Misono, K.S., Pandey, K.N., Tibbetts, C., Inagami, T., (1984) : Structure of rat atrial natriuretic factor precursor deduced from cDNA sequence. *Nature.* 309 :722-724.
- 78- Manning, P.T., Schwartz, D., Katsube, N.C., Halmborg S.W., Needleman, P.L., (1985) : Vasopressin stimulated release of atriopeptin : Endocrine antagonists in fluid homeostasis. *Sci.* 229 :395-397.
- 79- Marx, J.L., (1981) : Natriuretic hormone linked to hypertension. *Sci.* 212 : 1255-1258.

- 80- Mckitrick , D.J., Calabesu, F.R., (1988) : Cardiovascular responses to microinjection of ANF into dorsal medulla of rats. Am.J.Physiol. 255 (1 part 2) : R₁₈₂-R₁₈₇.
- 81- Mendezz, R.E., Dunn, B.R., Troy, J.L., Brenner, B.M., (1988) : Atrial natriuretic peptide and furosemide effects on hydraulic pressure in the renal papilla. Kidney. Int. 34 : 36-42.
- 82- Mills, I.H., (1984) : Atrial natriuretic factor : a new hormone? Br. Med.J. 289 : 210-211.
- 83- Misono, K.S., Fukumi, H., Grammer, R.T., Inagami, T., (1984) : Rat atrial natriuretic factor : Complete amino acid sequence and disulfide linkage essential for biological activity. Biochem. Biophys. Res. Commun. 119 (2) : 524-529.
- 84- Morel, G., Chabot, J.G., Cabellero, T.G., Gossard, F., Dhl, F., Isles, M.B., Heisher, S., (1988) : Synthesis internalization and localization of atrial natriuretic peptide in rat adrenal modulla. Endocrinology. 123 (1) : 149-157.
- 85- Morise, T., Miyamor, I., Hifumi, S., Okamoto, S., Ikeda, M., Takeda, Y., Koshida, H., Yasuhara, S., Takeda, R., (1985) : Effect of sodium in take on the excretion of urinary natriuretic factor in essential hypertensives. End. Japon, 32 (3) : 405-411.
- 86- Mukhopadhyay, A.K., Schumacher, M., Leidenberger, F.A., (1986) : Steroidogenic effect of atrial natriuretic factor in isolated mouse loding cells is mediated by cyclic GMP, 239: 463-467.
- 87- Murakami, Y., Kato, Y., Tojo, K., Inove, T., Yanaihara, N., Imura, H., (1988) : Stimulation of growth hormone secretion by central administration of atrial natriuretic polypeptide in the rat. Endocrinology. 122 (5) : 2103-2108.

- 88- Murthy, B.K., Thibault, G., Garcia, R., Gutkowska, J., Genest, J., Cantin, M., (1986) : Degradation of atrial natriuretic factor in the rat. *Biochem. J.* 240 : 461-469.
- 89- Myers, B.D., Peterson, C., Molina, C., Tomlanovich, S.J., Newton, L.D., Nitkin, R., Sandler, H., Murad, F., (1988) : Role of cardiac atria in the human renal response to changing plasma volume *Am.J. Physiol.* 254 (4 part 2) : F₅₆₂-F₅₇₃.
- 90- Napier, M.A., Dewey, R.S., Schönberg, G.A., Benett, C.D., Rodkey, J.A., Marsh, E.A., Whinney, M., Seymour, A.A., Blaine, E.H., (1984) : Isolation and sequence determination of peptide components of atrial natriuretic factor. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 120 (3) : 981-988.
- 91- Napier, M.A., Vandlen, R.L., Schönberg, G.A., Nutt, R.F., Brady, S., Lyle, T., Winquist, R., Faison, E.P., Heinel, L.A., Blaine, E.H., (1984) : Specific membrane receptors for atrial natriuretic factor in renal and vascular tissues. *Proc.Natt.Acad. Sci.* 81 : 5946-5950.
- 92- Nonoguchi, H., Knepper, M.A., Manganella, V.C., (1987) : Effects of atrial natriuretic factor on cyclic Guanosine monophosphate and cyclic adenosine monophosphate accumulation in microdissected nephron segments from rats. *J.Clin.Invest.* 79 : 500-507.
- 93- Oikawa, S., Imai, M., Veno, A., Tanaka, S., Naguchi, T., Nakazato, H., Kangawa, K., Fukuda, A., Matsuo, H., (1984) : Cloning and sequence analysis of cDNA encoding a precursor for human atrial natriuretic polypeptide. *Nature.* 309 : 724-726.
- 94- Ömürlü, K., (1988) : Aktif atrial peptidler. *Türkiye Klinikleri.* 8 (3) : 209-214.
- 95- Pichet, R., Gutkowska, J., Cantin, M., Lavalley, M., (1988) : Hemodynamic and renal responses to volume expansion in dogs with cardiac denervation. *Am.J.Physiol.* 254 (6 part 2) : F₂₈₀-F₂₈₆.

- 96- Pollock, D.M., Banks, R.O., (1983) : Effect of atrial extract on renal function in the rat. Clin. Sci. 65 : 47-55.
- 97- Purkenson, M.L., Blaine, E.H., Stokes, T.J., Klahr, S., (1989) : Role of atrial peptide in the natriuresis and diuresis that follows relief of obstruction in rat. Am.J.Physiol. F₅₈₃-F₅₈₉.
- 98- Raine, A.E.G., MacPhee, A.A., Ledingham, J.G.G., (1984) : Effects of high and low molecular weight atrial natriuretic factor in the isolated kidney. Clin. Exper. Theory and Practice. A₆(10-11) : 1863-1866.
- 99- Rascher, W., Lang, R.E., Tulassay, T., (1985) : Atrial natriuretic peptide in plasma of volume-overloaded children with chronic renal failure. Lancet. August. 10:303-305.
- 100- Richards, A.M., Ikram, H., Yandle, T.G., Nicholls, M.G., Webster, M.W.I., Espiner, E.A., (1985) : Renal, Haemodynamic and hormonal effects of human alpha atrial natriuretic peptide in healthy volunteers. Lancet. March. 9 : 545-518.
- 101- Richterich, R., (1969) : Clinical Chemistry. Theory and practice. S.Kanger, Basal, Academic Press. 197.
- 102- Sagnella, G.A., MacGregor, G.A.,(1984) : Cardiac peptides and the control of sodium excretion. Nature. 309 :666-667.
- 103- Salbaş, K., Ömürlü, K., Sonel, A., Özyurda, Ü., Bozkay, H., (1989) : Atrial natriuretik peptidin (ANP) izole kurbağa kalbi kontraktıl aktivitesi üzerine etkileri. Türkiye Klinikleri. Kardiyoloji. 2 (1) : 40-47.
- 104- Saper, C.B., Standaert, D.G., Currie, M.G., Schwartz, D., Geller, D.M., Needleman, P., (1985) : Atriopeptin-immunoreactive neurons in the brain : Presence in cardiovascular regulatory areas. Sci. 227: 1047-1049.

- 105- Schiebinger, R.J., Pratt, J.H., Kem, D.G., (1988) : The adrenal capsule alters the response of Zona glomerulosa cells to atrial natriuretic peptide. *Endocrinology*. 123 (1) : 492-496.
- 106- Schiffrin, E.L., Gutkomska, J., Kuchel, O., Cantin, M., Genest, J., (1985) : Plasma concentration of atrial natriuretic factor in a patient with paroxysmal atrial tachycardia. *New. Eng. J.Med.* May. 2:1196.
- 107- Schultz, H.D., Gardner, D.G., Deschepper, C.F., Coleridge, H.M., Coleridge, J.C.G., (1988) : Vagal C-fiber blockade abolishes sympathetic inhibition by atrial natriuretic factor. *Am.J.Physiol.* 255 (1 part 2) : R₆-R₁₃.
- 108- Schwartz, D., Geller, D.M., Manning, P.T., Siegel, N.R., Fok, K.F., Smith, C.E., Needleman, P., (1985) : Ser-Leu-Arg-Arg- atriopeptin III : The major circulating form of atrial peptide. *Sci* : 229-397-400.
- 109- Seidah, N., Lazure, C., Chretien, M., Thibault, G., Garcia, R., Cantin, M., Genest, J., Nutt, R.F., Brady, S.F., Lyle, T.A., Paleveda, W.J., Colton, C.D., Ciccarone, T.M., Veber, D.F., (1984) : Amino acid sequence of homologous rat atrial peptides : Natriuretic activity of native and synthetic forms. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 81 : 2640-2644.
- 110- Seidman, C.E., Duby, A.D., Choi, E., Graham, R.M., Edgar, H., Homcy, C., Smith, J.A., Seidman, J.G., (1984) : The structure of rat preproatrial natriuretic factor as defined by a complementary DNA clone. *Sci.* 225 : 324-326.
- 111- Seidman, C.E., Wong, D.W., Jarcho, J.A., Bloch, K.D., Seidman, J.G., (1988) : Cis-acting sequences that modulate atrial natriuretic factor gene expression. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 85 : 4140-4108.
- 112- Shafferhans, K., Heidbreder, E., Grimm, D., Heidland, A., (1986) : Human atrial natriuretic factor prevents against norepinephrine-induced acute renal failure in the rat. *Klin. Woch.* 64 (Suppl VI) : 73-77.

- 113- Shenker, Y., Weder, A.B., Grekin, R.J., (1987) : Atrial natriuretic hormone is not elevated during dopamine induced natriuresis. Life Sci. 40 : 1967-1970.
- 114- Soejima, H., Grekin, J., Briggs, D., Schnermann, J., (1988) : Renal response of anesthetized rats to low-dose infusion of atrial natriuretic peptide. Am.J.Physiol. 254(2 part 2) : R₄₄₉-R₄₅₅.
- 115- Sterzel, R.B., Luft, F.C., Lang, R.E., Ganten, D., (1987) : Effects of atrial natriuretic factor in rats with renal insufficiency. J. Lab.Clin. Med. 110:63-69.
- 116- Sugawa, A., Nakao, Morii, N., Sakamoto, M., Suda, M., Shimokura, M., Kiso, Y., Kihara, M., Yamori, Y., Nishimura, K., Soneda, J., Ban, T., Imura, H., (1985) : α -human atrial natriuretic polypeptide is released from the heart and circulates in the body. Biochem. Biophys. Res. Commun. 129 (2) : 439-446.
- 117- Swithers, S.E., Stewart, R.E., McCarty, R., (1987) : Binding sites for atrial natriuretic factor (ANF) in kidneys and adrenal glands of spontaneously hypertensive (SHR) rats. Life. Sci. 40 : 1673-1681.
- 118- Takayanagi, R., Imada, T., Inagami, T., (1987) : Synthesis and presence of atrial natriuretic factor in rat ventricle. Biochem.Biophys.Res. Commun. 142 (2) : 483-488.
- 119- Tanaka, I., Misono, K.S., Inagami, T., (1984) : Atrial natriuretic factor in rat hypothalamus, atria and plasma : Determination by specific radioimmunoassay. Biochem. Biophys. Res. Commun. 124 (2) : 663-668.
- 120- Thibault, G., Garcia, R., Seidah, N.G., Lazure, C., Cantin, M., Chretien, M., Genest, J., (1983) : Purification of three rat atrial natriuretic factors and their amino acid composition. FEBS letters. 164 (2) : 286-289.

- 121- Thibault, G., Garcia, R., Cantin, M., Genest, J., Lazure, C., Seidah, N.G., (1984) : Primary structure of a high M_r form of rat atrial natriuretic factor. FEBS letters. 167 (2) : 352-356.
- 122- Tikkanen, I., Metsarinne, K., Fyhquist, F., (1985) : Atrial natriuretic peptide in paroxysmal supraventricular tachycardia. Lancet. July. 6 : Vol 2 : 40-41.
- 123- Trippodo, N.C., Cole, F.E., Macphee, A.A., Pegram, B.L., (1987) : Biologic mechanisms of atrial natriuretic factor. J.Lab.Clin.Med. 109 (2) : 112-119.
- 124- Ulfendahl, H.R., Göransson, A., Hansell, P., Karlsson, M., Sjöquist, M., (1986) : Natriuresis obtained by stimulation of the cerebroventricular system with sodium ions indicates a blood-borne natriuretic factor. Acta.Physiol.Scand. 127 : 269-271.
- 125- Unger, V., Ganten, D., Lang, R.E., (1985) : Dopamin in kidney : a further natriuretic hormone? Fortschr. Med. 103-357.
- 126- Vas, A., Gachalyi, B., Nadas, B., Kurcz, M., Keldor, A., (1986) : Effect of digoxin on human erythrocyte glucose-6-phosphate dehydrogenase activity. A link to natriuretic hormone? Int. J. Clin. Pharmacol. Toxicol. 24 (7) : 377-378.
- 127- Vaughan, E.D., Facs, M.D., Marion, D.N., Sealey, J.E., Camargo, M.J.F., Kleinert, H.D., Maack, T., Laragh, J.H., (1983) : Atrial natriuretic extract : Effects on renal hemodynamics in the rabbit. Surgical Forum. 34 : 690-692.
- 128- Veress, A.T., Milojevic, S., Flynn, T.G., Sonnenberg, H., (1988) : In vitro secretion of atrial natriuretic factor : receptor-mediated release of prohormone. Am.J.physiol. 254 (5 part 2) : R₈₀₉-R₈₁₄.

- 129- Vollmar, A.M., Mytaka, C., Arendt, R.M., Schulz, R., (1988): Atrial natriuretic peptide in Bovine corpus luteum. *Endocrinology*. 123: 762-767.
- 130- Volpe, M., De Luca, N., Atlas, S.A., Camargo, M.J., Indolfi, C., Lembo, G., Trimerco, B., Condorelli, M., Laragh, J.H., (1988) : Reduction of atrial natriuretic factor circulating levels by endogenous sympathetic activation in hypertensive patients. *Circulation*. 77 (5): 997-1002.
- 131- Winaver, J., Hoffman, A., Burnett, J.C., Haramati, A., (1988) : Hormonal determinants of sodium excretion in rats with experimental high-output heart failure. *Am.J.Physiol*. 254 (5 part 2) : R776-R784.
- 132- Yamaji, T., Ishibashi, M., Yamada, A., Takaku, F., Habashi, A., Katayama, S., Ishii, J., Takami, M., Fukushima, T., (1988) : Plasma levels of atrial natriuretic hormone in Cushing's syndrome. *J.Clin.End.Metab*. 67 (2) : 348-352.
- 133- Yamanaka, M., Greenberg, B., Johnson, L., Seilhener, J., Bremer, M., Friedemann, T., Miller, J., Atlas, S., Lewicki, J., Fiddes, J., (1984) : Cloning and sequence analysis of the cDNA for the rat atrial natriuretic factor precursor. *Nature*. 309 : 219-222.
- 134- Yeğen, B., Oktay, Ş., (1988) : Atrial natriuretic peptide. *Marmara Medical J.*, 1 (2) : 42-45.
- 135- Yılmaz Baki, (1984) : Fiziyojji Hacettepe Taş kitapçılık Ltd.Şti. Ankara.
- 136- Yip, C.C., Laing, L.P., Flynn, T.G., (1985) : Photoaffinity labeling of atrial natriuretic factor receptors of rat kidney cortex plasma membranes. *J.Biol.Chem*. 260 (14) : 8229-8232.

- 137- Zimmerman, R.S., Ryan, J., Edwards, B.S., Klee, G., Zimmerman, D., Scott, N., Burnett, J.C., (1988) : Cardiorenal endocrine dynamics during volume expansion in hypothyroid dogs. Am. J. Physiol. 255(1 part 2) : R₆₁-R₆₇.



TEŐEKKÖR

Tez çalıőmam sırasında büyük ilgi, yardım ve desteğini benden esirgemeyen danıőman hocam sayın Prof. Dr. Neyhan ERGENE'ye katkıları için minnet ve őükranlarımı sunuyorum.

Çalıőmam sırasında öneri ve yardımlarıyla destek olan hocam sayın Prof. Dr. Bilgin TÖZÜN'e içten teşekkür ederim.

Ayrıca DETAM müdürü sayın Prof. Dr. Sevim BÜYÜKDEVRİM ve müdür yardımcısı sayın Dr. Tuncay ALTUĞ'a laboratuvar olanaklarını kullanmama izin verdiği ve değerli teşvikleri ve yardımları için teşekkürü bir borç bilirim.

Histolojik kesitlerin hazırlanması için gerekli bütün imkanları sağlayan İ.Ü.Tıp Fakóltesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı Başkanı sayın Prof. Dr. Türkân ERBENĐİ ve sayın Prof. Dr. Yener AYTEKİN'e sonsuz teşekkür ederim.

W. G.
Yükseköğretim Kurulu
Dokümantasyon Merkezi