

Multifonksiyonel Bir Peptid; Adrenomedullin

A MULTIFUNCTIONAL PEPTIDE; ADRENOMEDULLIN

Dr.Özlem GÜNEYSEL^a

^aAcil Tıp AD, Marmara Üniversitesi Tıp Fakültesi, İSTANBUL

Özet

Adrenomedullin (ADM), 52 amino asitlik endojen vazodilatör peptid, 1993'te Dr Eto ve Kitamura tarafından Japonya'da keşfedildi. ADM, ilk olarak olarak insan feokromasitoma hücrelerinden izole edilmiştir. ADM mRNA'nın vasküler düz kas hücre kültürleri, endotel hücre kültürleri, kalp, akciğer, böbrekler, karaciğer ve barsakları da içeren bir grup doku veya hücrelerden ekspres edildiği rapor edilmiştir. ADM özel reseptörleri aracılığıyla vasküler düz kas hücrelerinde cAMP miktarını artırır, hücre içi kalsiyum miktar ve sensitivitesini azaltır, nitrik oksit oluşumunun uyarılması gibi diğer sinyal mekanizmalarının vücutta biyolojik etkilerini göstermesine yardımcı olur. ADM, periferik kan granülosit, lenfosit, monosit, makrofaj ve fibroblastlarda üretilir ve salgılanır. Bu hücrelerin tümü Tümör Nekroz Faktör, İnterlökin-1 ve Lipopolisakaritlerin uyarılarıyla inflamatuvar olaylarda görev almaktadır.

Plazma ADM düzeyleri bir kaç klinik durumda artmaktadır; bunlar esansiyel hipertansiyon, konjestif kalp hastalığı, akut miyokard infarktüsü, kronik renal yetmezlik ve sepsistir. ADM'nin, fizyolojik kardiyovasküler ve renal homeostazi korumak için vazodilatör ve natriüretik özellikleri dolayısıyla önemli bir rol oynadığı düşünülmektedir.

Anahtar Kelimeler: Adrenomedullin, vazodilatör peptid

T Klin Tıp Bilimleri 2004, 24:159-166

Abstract

Adrenomedullin (ADM) is a 52-amino acid endogenous vasodilator peptide discovered in 1993 by Drs. ETO and Kitamura in Japan. It was originally isolated from the extracts of human pheochromotomas. It has been reported that ADM mRNA is expressed in a variety of tissues / cells, including cultured vascular smooth muscle cells, cultured endothelial cells, heart, lung, kidneys, liver and intestines. ADM increases intracellular cAMP in vascular smooth muscle cells via its specific receptors. Other cell signaling mechanisms, such as a decline in intracellular calcium concentration, decreased calcium sensitivity of the contractile apparatus, and stimulation of nitric oxide formation are utilized to mediate the peptide's biological actions in the body. ADM is produced and secreted from peripheral blood granulocytes, lymphocytes, monocytes, macrophages and fibroblasts, all of which are known to be involved in inflammatory process by the stimulation of the tumor necrosis factor, interleukin-1 and lipopolisaccharide.

Plasma ADM levels are known to be increased in several clinical situations such as essential hypertension, congestive heart failure, acute myocardial infarction, chronic renal failure, and sepsis. ADM is considered to play an important role through its vasodilatory and natriuretic properties in maintaining physiological cardiovascular and renal homeostasis.

Key Words: Adrenomedullin, vasodilator peptide

T Klin J Med Sci 2004, 24:159-166

Adrenomedullin (ADM), 1993 yılında Eto ve arkadaşları tarafından insan feokromasitoma hücrelerinden ayrıştırılmış yeni bir peptiddir.¹ Önceleri trombositlerde cAMP düzeyini arttıran, hipotansif etkili bir peptid olarak tanımlanmıştır. Feokromasitoma hücrelerindeki gibi adrenal medullada da bol miktarda bulunması

nedeniyle Kitamura ve arkadaşları tarafından ADM adı verilmiştir.¹

ADM, 52 amino asit (aa), bir intramoleküler disülfid bağı ve C-terminal amid yapısından ibarettir. ADM, %27 oranında "Calcitonin Gene Related Peptide" (CGRP) benzerliğinden dolayı CGRP ailesine bağlı olduğu düşünülmektedir. Fizyolojik olarak ADM, güçlü ve uzun etkili hipotansif etkiye sahiptir. ADM'nin ratlarda damar içi bolus injeksiyonu uzun süren hipotansiyon ile birlikte sistemik vasküler rezistansta düşmeyle sonuçlanmakta, bu da ADM'nin kan basıncı ve vasküler tonusun regülasyonunda rolü olduğunu düşündürmektedir.²

Geliş Tarihi/Received: 20.10.2003

Kabul Tarihi/Accepted: 26.02.2004

Yazışma Adresi/Correspondence: Dr.Özlem GÜNEYSEL
Marmara Üniversitesi Hastanesi
Tophanelioğlu C. Yurtaçan S No:13
Altunizade/İSTANBUL
guneyssel@mynet.com
oguneyssel@hotmail.com

Copyright © 2004 by Türkiye klinikleri

T Klin J Med Sci 2004, 24

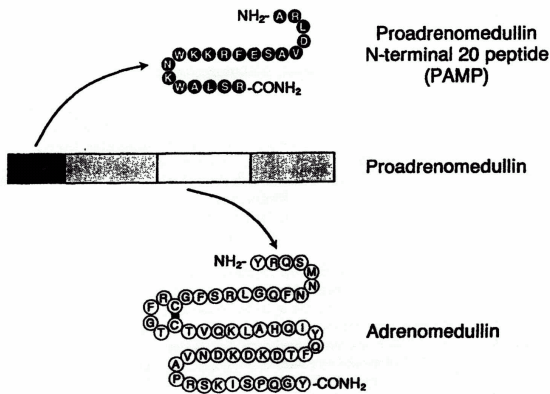
Kimyasal Yapı ve Moleküler Biyoloji

ADM, 6 amino asitlik tek bir rezidü ve CGRP ile amiline benzeyen C- terminal amid yapısı içerir. Kitamura ve ark. insan feokromasitoma hücrelerinden cDNA yapısını araştırmış, ADM'nin şifresini prekürsörü olan prepro-ADM'den elde etmeyi başarmışlardır.³ (Şekil 1). İnsan prepro-ADM'ni 185 aa uzunluğunda ve 164 aa'lık bir peptid olan proADM'ne dönüştürülür, bu da 52 aa'lık bir peptid ve biyolojik olarak aktif formu olan ADM'ne dönüştürülür.⁴

Sentez ve Sekresyon

ADM'nin vasküler endotel hücre kültürlerinde sentez ve sekresyonu kanıtlanmıştır. İmmunoreaktif ADM rat, domuz, insan ve öküz endotel hücrelerinden kültür medyasında saptanmış ve sekresyon oranının endotelin-1 (ET-1) ile neredeyse karşılaştırılabilir oranda yüksek olduğu bulunmuştur.⁵ ADM mRNA'sı endotel hücre kültürlerinde yüksek miktarda (adrenal bezdekinden 20-40 kat fazla) eksprese olmaktadır. ADM'nin endotel kaynaklı relaksasyon faktörlerinden biri olduğu düşünülmektedir. Vasküler düz kas hücrelerinden ise endotel hücrelerine göre daha az miktarlarda salınmaktadır.⁶

ADM sentezinin regülasyon mekanizması henüz net olarak açıklanamamıştır. Ancak farklı mekanik ve humoral faktörlerin uyarısına bağlı olduğu düşünülmektedir. İntrasellüler cAMP konsantrasyonunun ADM üretimini regüle ettiği



Şekil 1. Adrenomedullin'in yapısı ve amino asit dizilimi

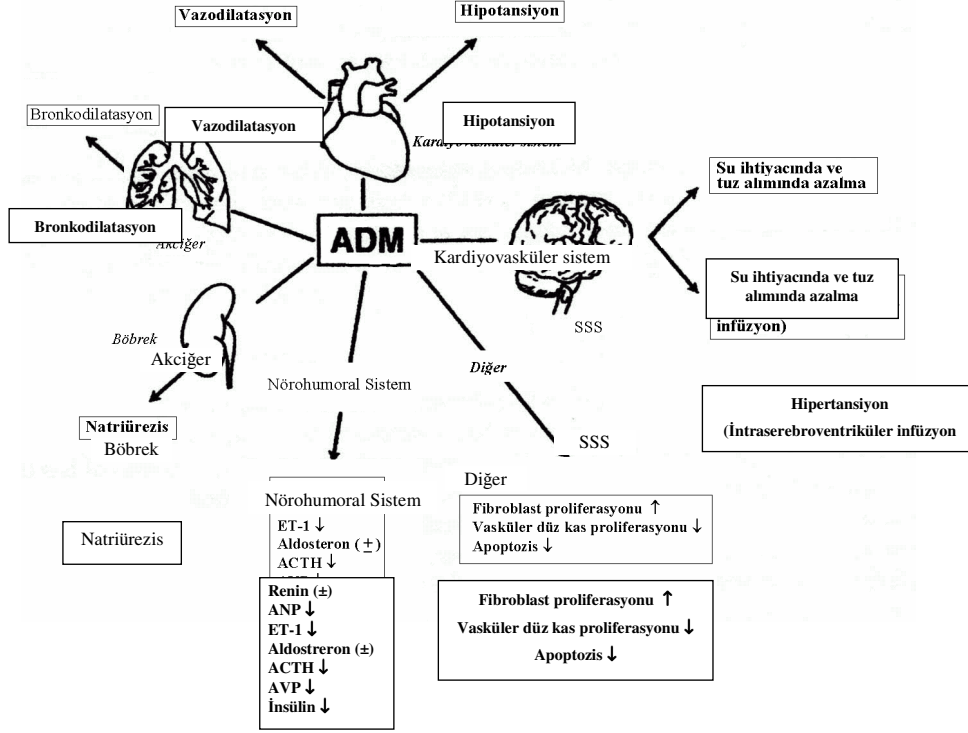
Sugo ve ark. çalışmasında ortaya konmuştur. Trombin, Vasoaktif İntestinal Polipeptid ve İnterferon-gama'nın ADM sentezini inhibe ettiği bilinmektedir.⁷

Angiotensin-II (A-II), ET-1, bradikinin, substans P, adrenalin, phorbol ester ve fetal calf serum ADM sentezini vasküler düz kas hücrelerinde arttırmaktadır. Glukokortikoid ve tiroid hormonları ise hem endotel hücre kültürlerinde hem de düz kas hücrelerinde ADM yapımını uyarmaktadır.⁸

Sitokinler ADM için önemli salgılatıcı rol oynarlar. ADM gen ekspresyonu ve üretimi Interlökin-1-alfa, TNF-alfa, TNF-beta ve Lipopolisakkarid (LPS) ile belirgin düzeyde arttırılmaktadır.⁹ Anestezi uygulanmış ratlarda LPS'in damar içine injeksiyonu, plasma ADM konsantrasyonunu arttırmıştır.¹⁰ LPS injekte edilmiş ratlardaki ADM gen ekspresyonu belirgin derecede ileum, jejunum, karaciğer, akciğer, aort, testis, iskelet kası, adrenal bez, submaksiller bez ve ventriküllerde saptanmıştır. LPS'in ADM gen ekspresyonu üzerindeki etkileri başka araştırmacılar tarafından da konfirme edilmiştir. İnflamasyon ve endotoksik şok gelişiminde ADM'nin vasodila-tasyon veya hipotansiyon oluşmasında rol oynayabileceği düşünülmektedir.¹¹

ADM'nin trombositlerdeki cAMP düzeyini arttırdığını bildiren ilk yazıdan (Kitamura ve Eto) sonra, cAMP'nin, ADM'nin sekonder habercisi olduğunu gösteren birçok rapor yayınlanmıştır.^{4,12-19}

ADM, hipotansif etkisini en az iki mekanizmayla oluşturmaktadır: **a)** vasküler düz kas hücrelerinde direkt etkiyle cAMP düzeyini arttırarak ve **b)** endotel hücrelerini uyarıp nitrik oksit (NO) salınımını sağlayarak. Her iki yolla da vasküler relaksasyon sağlanmaktadır. Shimalake ve ark. öküz aortik endotelial hücrelerinde ADM'nin doza bağımlı olarak intrasellüler serbest Ca⁺⁺ miktarını arttırdığını rapor etmişlerdir. Artan bu serbest Ca⁺⁺, fosfolipaz-C aktivasyonu ve inozitol 1,4,5-trifosfat formasyonu sonucu ortaya çıkmaktadır. Bu olaylar sonucunda da NO sentezi aktive olmaktadır. ADM'ne yanıt olarak ortaya çıkan cAMP ve Ca⁺⁺ birikimi kolera toksin-sensitiv G protein aracılığında olmaktadır.



Şekil 2. Adrenomedullin'in sistemler üzerindeki fizyolojik etkileri.

ADM'nin, etki mekanizmasının kısmi olarak NO üzerinden işlediğini gösteren birçok çalışma bulunmaktadır. NO sentez inhibitorü olan L-NAME (N-nitro-L-Arginin metil ester) uygulamasının ADM'ne bağlı gelişen vasodilatatör ve sistemik depressör yanıtları geriletmediği gösterilmiştir.²⁰

Temizlenme

ADM'nin pulmoner yolla atıldığı düşünülmektedir. İmmunoreaktif ADM insanda çeşitli dokularda ölçülmüş, plazma ADM konsantrasyonunun aorttaki miktarının, pulmoner arterdekenden belirgin olarak az olduğu bulunmuştur.²¹

Yenidoğan ve 2 haftalık domuz yavrularında sağ ve sol atriumlara aynı dozda insan ADM verilmiş, sol atriuma verilen ADM'den sonra sistemik ortalama arter basıncı ve ortalama pulmoner arter basıncında belirgin düşme bulunmuş; bununla beraber, aynı miktardaki doz sağ atriuma verildiğinde ortalama pulmoner arter basıncında belirgin düşme olmasına rağmen ortalama sistemik

arter basıncında anlamlı değişiklikler bulunamamıştır. Bu da ADM'nin sistemik vazodilatasyon özelliğinin pulmoner sirkülasyonda ilk geçiş eliminasyonuna uğradığını düşündürmektedir.²²

Fizyoloji

1) Damarlar üzerindeki etkileri

a) *İn vitro* çalışmalarda, ADM'nin vasküler tonus üzerinde potent bir vasodilatatör olduğu bildirilmiştir. Köpeklerden izole edilmiş femoral, renal, koroner, mesenterik²³ ve basiler²⁴ arterlerde ADM'nin doza bağlı vazorelaksasyon yaptığı gösterilmiştir. Vazorelaksasyon etkisi endotelin intact olduğu arterlerde, endotelin çıkarıldığı arterlere göre daha belirgin bulunmuştur.²³ Ratlardan izole edilmiş aortik arterlerde, insan ADM'nin NO bağlı relaksasyon oluşturduğu; ET-1 ve A-II salınmasını inhibe ettiği bildirilmiştir.²⁵ Yine ratlarda, ADM'nin bolus uygulanmasının, etkisi uzun süren ve doza bağımlı koroner dilatasyon oluşturduğu bildirilmiştir.²⁶

b) *İn vivo* çalışmalarda göğsü açılmış köpeklerde intrakoroner ADM uygulamasının, doz

bağımlı olarak ve sistemik hemodinamiyi etkilemeden koroner kan akımını arttırdığı gösterilmiştir. K^+ -ATP kanal antagonisti ve adenozin reseptör antagonistlerinin intrakoroner uygulanmasıyla ADM'ne bağlı vazodilatasyon bloke olmuş; ancak aynı yolla CGRP uygulanması ADM'nin etkilerini değiştirmemiştir. Böylece ADM'nin koroner vazodilatasyon etkisinin adenozin reseptör aktivasyonu ve K^+ -ATP kanalları yoluyla olduğunu düşündürmektedir.²⁷

c) *İnsanlar üzerinde yapılan çalışmalar* da mevcuttur. Nakamura ve ark. 10 sağlıklı ve 18 kalp yetmezliği (KY) olan hastada ön koldan ADM uygulaması ve yanıtlarını araştırmışlardır. ADM her iki grupta da ön kol kan akımını artırmış ancak KY olan grupta artış daha az oranda bulunmuştur. Sağlıklı kontrol grubunda ADM'ne bağlı kan akımındaki artış L-NMMA ile azalmış ancak KY grubunda değişmemiştir. Buna göre insanlarda periferik vasküler yapıda ADM'nin vazodilatör etkisini NO'ye bağımlı olarak oluşturduğu düşünülmektedir.²⁸

2) Kalp

ADM'nin inotropik etkileri hakkında tartışılabilir bilgiler mevcuttur. Szokodi ve ark. ADM'nin (+) inotrop etkisi olduğunu ileri sürerken²⁹ İkenouchi ve ark. tavşan ventrikül myositlerindeki çalışmalarıyla (-) inotrop olduğunu göstermişlerdir.³⁰

3) Sistemik kardiyovasküler etkiler

ADM damar içi bolus verildiğinde akciğer, kalp, dalak, böbrek, adrenal bez ve ince barsakta kan akımında belirgin artışa neden olurken beyin ve ciltte herhangi bir değişiklik olmamakta; iskelet kası ve testislerde akım azalmaktadır. Bu bilgilere göre ADM, eksprese olduğu organlarda kan akımını daha güçlü etkilemektedir. Bu da ADM'nin sirkulatuvar bir hormondan çok lokal vazodilatör etkili bir hormon olduğunu düşündürmektedir.³¹

ADM'nin 2-8 ng/kg/dk dozundaki infüzyonlarında insanlarda yapılan çalışmaya göre, arteriyel kan basıncında belirgin düşme bulunmuştur.³² Aynı çalışmada idrar volümü ve elektrolit ekskresyonunda bir değişiklik

bulunmamıştır. Bu bulgular ADM'nin kan basıncı üzerindeki biyolojik aktivitesinin, renal ve hormonal etkilerine göre daha düşük dozlarda olduğunu göstermektedir.³³

4) Renal etkiler

ADM'nin aynı zamanda yeni bir natriüretik peptid olduğu da bildirilmektedir. Köpeklerde yapılan çalışmalarda intrarenal verilen ADM'nin belirgin diüretik ve natriüretik etki oluşturduğu, karşı böbreğe verilen normal salinin etkisiz kaldığı bildirilmiştir. Bildirilen bu etkilerin yanı sıra glomerüler filtrasyon hızında (GFR) artış ve distal tubuler sodyum reabsorpsiyonunda azalmanın da birlikte olduğu görülmüştür.³⁴

ADM'nin renal etkilerinin CGRP ile bloke olmadığı bildirilmiştir. ADM'nin renal etkileri NO sentezinin inhibisyonu sırasında azalmaktadır, bu durum ADM'nin renal vazodilatör, diüretik ve natriüretik etkilerinin endojen NO salınımlarıyla ilişkili olduğunu göstermektedir.³⁵ Hirata ve ark. izole böbrekte ADM'nin endojen NO salınımlarını artırdığını göstermişlerdir.³⁶

5) Bronkodilatasyon

Asetilkolin ve histamin ile indüklenen bronkokonstrüksiyon ADM ile inhibe olduğunda, bu bronşiyal koruyucu etkinin de CGRP ile doz bağımlı olarak geri döndürülebildiği bildirilmiştir.³⁷

6) Santral sinir sistemi (SSS) etkileri

ADM'nin SSS'de su içme ihtiyacını azaltma,³⁸ tuz alımında azalma³⁹ ve gastrik motiliteyi azaltma⁴⁰ gibi etkileri yapılan deneylerle kanıtlanmıştır. İlginç olarak ADM'nin sistemik uygulanmasıyla hipotansiyon ve sistemik vasküler rezistansta azalma görülmekle birlikte, intraserebroventriküler uygulanmasıyla sistemik hipertansiyon^{41,42} görülmektedir. Allen ve ark. ratlarda *area postrema*'ya uyguladıkları mikroinjeksiyon ile kan basıncında artış sağlamışlardır.⁴³

Adm'nin Diğer Faktörlerle Etkileşimi

1) Atriyal Natriüretik Peptid (ANP)

ADM, doz bağımlı olarak cAMP'yi artırır

ve ANP gen ekspresyonu ve sekresyonunu inhibe eder. Diğer yandan ANP'nin (0.1 µg/kg/dk dozda) infüzyonu ile dolaşımdaki ADM'nin yaklaşık 4 kat arttığı, diürez ve kan basıncını düşürücü etkinin ortaya çıktığı saptanmıştır. ANP infüzyonu sürdükçe ADM artışının da sürdüğü ancak infüzyon kesildikten yaklaşık 30 dakika sonra ADM'nin normal düzeylere indiği gözlenmiştir.⁴⁴

2)Renin

ADM'nin tavşan ve koyunlara damar içi uygulanmasıyla ortalama arter kan basıncında düşme ve plazma renin aktivitesinde artış görülür.⁴⁵ Ayrıca ADM doz bağımlı olarak izole rat böbreklerinden renin salınımını sağlamaktadır.⁴⁶ Bazı otörlere göre ADM, otokrin ve/veya parakrin bir stimulan faktör olarak renin sekresyon ve renin gen ekspresyonunda rol oynamaktadır.⁴⁷

3)Aldosteron

ADM bazal veya ACTH ile stimüle olmuş aldosteronu etkilemez; belirgin şekilde A-II stimülasyonu yoluyla üretilen aldosteronu stimüle eder.⁴⁸⁻⁵¹ Bu etki CGRP ile inhibe edilebilmektedir. ADM'nin, hücre içi serbest Ca⁺⁺ miktarını arttırarak aldosteronu inhibe ettiği düşünülmektedir. Farklı araştırmacılar tam tersi sonuçlara ulaşmışlardır. Mazocchi ve ark. ADM'nin doz bağımlı olarak aldosteron ve kortikosteron salınımını arttırdığını bildirmişlerdir.⁵²

4)Norepinefrin (NE)

Yapılmış yeterli çalışma olmamakla birlikte Fukuhara ve ark. tavşanlarda ADM'nin doz bağımlı olarak ortalama arteriyel kan basıncını düşürdüğünü; birlikte plazma norepinefrinini arttırdığını bildirmişlerdir.⁴⁵

Klinik

Plazma ADM düzeyi farklı bir çok hastalıkta yükselmektedir.

1) Hipertansiyon

Hipertansif hastalarda plazma ADM düzeyi

hastalığın şiddetiyle doğru orantılı olarak yükselmektedir.⁵³⁻⁵⁷ Normotansif kişilere akut ya da kronik tuz yüklemeye dolaşımdaki ADM'nin etkilenmediği gösterilmiştir.⁵⁸ Yine hipertansif hastalarda ADM'nin serum kreatinini ile doğru, GFR ile ters orantılı olduğu gösterilmiştir.⁵⁶ Kan basıncı kontrol altına alındığında bile plazma ADM konsantrasyonunda değişme olmadığı gözlenmiştir. Ratlarda yapılan çalışmalar, plazma ADM konsantrasyonunun sol ventrikül ağırlığıyla doğru orantılı olarak arttığını göstermiştir, bu da ADM'nin kardiyak hipertrofide rol oynayabileceğini düşündürmektedir.⁵⁹

2)Konjestif Kalp Yetmezliği (KKY)

KKY hastalarında ADM düzeyinin sağlıklı insanlara göre artmış olduğunu gösteren birçok çalışma mevcuttur.⁵⁷⁻⁶² New York Kalp Birliği Fonksiyon Klasifikasyonuna göre hastalığın şiddeti arttıkça plazma ADM konsantrasyonu yükselmektedir.⁶⁰⁻⁶³ ADM konsantrasyonu, "pulmoner kapiller wedge basıncı" (PCWP) ile doğru, ejeksiyon fraksiyonu ile ters orantılıdır. Aynı şekilde plazma ADM konsantrasyonu ile NE, ANP, brain natriüretik peptid ve plazma renin aktivitesi ile doğru orantı vardır.⁶⁰⁻⁶² Plazma ADM konsantrasyonunun KKY 'nin tedavisinden sonra belirgin düzeyde gerilediği görülmüştür.⁶⁰

3)Akut Miyokard İnfarktüsü (AMI)

Kobayashi ve ark. 15 AMI'lı hastada plazma ADM düzeyini araştırmışlar, infarktın hemen ardından ADM düzeyinin yükseldiğini, hastalığın prognozuna bağlı olarak da zamanla azaldığını rapor etmişlerdir. Yine aynı hasta grubunda ADM düzeyinin KKY olan hastalarda, olmayanlara oranla daha yüksek olduğu bulunmuştur. AMI erken döneminde ADM konsantrasyonu PCWP, pulmoner arter basıncı, sağ atrium basıncı ve kalp hızı ile doğru orantılı olarak artmaktadır.⁶⁴

4)Pulmoner hipertansiyon

Pulmoner hipertansiyonu olan hastalarda plazma ADM konsantrasyonu yükselmiştir. ADM'nin pulmoner dolaşımdan belirgin "up-take"i, ADM'nin pulmoner hipertansiyonda önemli

kardiyo-vasküler regülatör olduğunu düşündürmektedir.⁶⁵

5)Kronik renal yetmezlik

Kronik renal yetmezlikte plazma ADM konsantrasyonu yükselmiştir.⁶⁶ Dolaşımdaki ADM ile plazma kreatinin düzeyleri arasında pozitif bir korelasyon olduğu gibi aynı zamanda ortalama arter kan basıncı ile de hem hemodiyaliz öncesi hastalarda hem de sağlıklı insanlarda pozitif bir ilişki bulunmuştur. Bununla beraber plazma ADM konsantrasyonu hemodiyalizden etkilenmemektedir.⁶⁷

KAYNAKLAR

1. Kitamura K, Kangawa K, Kawamoto M. Adrenomedullin: A Novel Hypotensive Peptide Isolated from Human Pheochromocytoma. *Biochem Biophys Res Commun* 1993; 192: 553-60.
2. Ishiama Y, Kitamura K, Ichiki Y. Hemodynamic effects of a novel hypotensive peptide, human adrenomedullin, in rats. *Eur J Pharmacol* 1993; 241: 271-3.
3. Kitamura K, Sakata J, Kangawa K. Cloning and Characterization of cDNA Encoding a Precursor for Human Adrenomedullin. *Biochem Biophys Res Commun* 1993; 194: 720-5.
4. Ishimitsu T, Kojima M, Kangawa K. Genomic Structure of Human Adrenomedullin Gene. *Biochem. Biophys Res Commun* 1994; 203: 631-9.
5. Sugo S, Minamino N, Kangawa K, et al. Endothelial Cells Actively Synthesize and Secrete Adrenomedullin. *Biochem Biophys Res Commun* 1994; 201: 1160-6.
6. Sugo S, Minamino N, Shoji H, et al. Production and Secretion of Adrenomedullin from Vascular Smooth-Muscle Cells: Augmented Production by Tumor Necrosis Factor- α . *Biochem Biophys Res Commun* 1994; 203: 719-26.
7. Sugo S, Minamino N, Shoji H, Kangawa K, Matsuo H. Effects of vasoactive substances and cAMP related compounds on adrenomedullin production in cultured vascular smooth muscle cells. *FEBS Lett* 1996; 369: 311-4.
8. Imai T, Hirata Y, Iwashina M, Marumo F. Hormonal regulation of rat adrenomedullin gene in vasculature. *Endocrinology* 1995 ; 136 : 1544-8.
9. Sugo S, Minamino N, Shoji H, et al. Interleukin-1, Tumor Necrosis Factor and Lipopolysaccharide Additively Stimulate Production of Adrenomedullin in Vascular Smooth Muscle Cells. *Biochem Biophys Res Commun* 1995; 207: 25-32.
10. Shoji H, Minamino N, Kangawa K, Matsuo H. Endotoxin Markedly Elevates Plasma Concentration and Gene Transcription of Adrenomedullin in Rat. *Biochem Biophys Res Commun* 1995; 215: 531-7.
11. So S, Hattori Y, Kasai K, Shimoda S, Gross SS. Up-regulation of rat adrenomedullin gene expression by endotoxin: relation to nitric oxide synthesis. *Life Sci* 1996; 58: PL309-15.
12. Eguchi S, Hirata Y, Kano H, et al. Specific receptors for adrenomedullin in cultured rat vascular smooth muscle cells. *FEBS Lett* 1994; 340: 226-30.
13. Yeung VT, Ho SK, Nicholls MG, Cockram CS. Adrenomedullin, a novel vasoactive hormone, binds to mouse astrocytes and stimulates cyclic AMP production *J Neurosci Res* 1996; 46: 330-5.
14. Edwards RM, Trizna W, Stack E, Aiyar N. Effect of adrenomedullin on cAMP levels along the rat nephron: comparison with CGRP. *Am J Physiol* 1996; 271: F895-9.
15. Eguchi S, Hirata Y, Iwasaki H, Sato K, Watanabe TX, Inui T. Structure-activity relationship of adrenomedullin, a novel vasodilatory peptide, in cultured rat vascular smooth muscle cells. *Endocrinology* 1994; 135: 2454-58.
16. Zimmermann U, Fischer JA, Muff R. Adrenomedullin and calcitonin gene-related peptide interact with the same receptor in cultured human neuroblastoma SK-N-MC cells. *Peptides* 1995; 16: 421-4.
17. Kato J, Kitamura K, Kangawa K, Eto T. Receptors for adrenomedullin in human vascular endothelial cells. *Eur J Pharmacol* 1995; 289: 383-5.
18. Entzeroth M, Doods HN, Wieland HA, Wienen W. Adrenomedullin mediates vasodilation via CGRP1 receptors. *Life Sci* 1995; 56: PL19-PL25.
19. Chini EN, Choi E, Grande JP, Burnett JC. and Dousa TP. Adrenomedullin Suppresses Mitogenesis in Rat Mesangial Cells via cAMP Pathway. *Biochem Biophys Res Commun* 1995; 215: 868-73.
20. Feng CJ, Kang B, Kaye AD, Kadowitz PJ, Nossaman BD. L-NAME modulates responses to adrenomedullin in the hindquarters vascular bed of the rat. *Life Sci* 1994; 55: PL433-8.
21. Nishikimi T, Kitamura K, Saito Y, Shimada K, Ishimitsu T, Takamiya M. Clinical studies on the sites of production and clearance of circulating adrenomedullin in human subjects. *Hypertension* 1994; 24: 600-4.
22. Sabates B, Granger T, Choe E, et al. Adrenomedullin is inactivated in the lungs of neonatal piglets. *J Pharm Pharmacol* 1996; 48: 578-80.
23. Nakamura K, Toda H, Terasako K, Kakuyama M, Hatano Y. Vasodilative effect of adrenomedullin in isolated arteries of the dog. *Jpn J Pharmacol* 1995; 67: 259-62.
24. Baskaya MK, Suzuki Y, Anzai M, Seki Y, Saito K. Effects of adrenomedullin, calcitonin gene-related peptide, and amylin on cerebral circulation in dogs. *J Cerebral Blood Flow Metab* 1995; 15: 827-34.
25. Tian Q, Zhao D, Tan YD, et al. Vasodilator effect of human adrenomedullin(13-52) on hypertensive rats. *Can J Physiol Pharmacol* 1995; 73: 1065-9.

26. Entzeroth M, Doods HN, Wieland HA, Wienen W. Adrenomedullin mediates vasodilation via CGRP1 receptors. *Life Sci* 1995; 56: PL19-PL25.
27. Sabates BL, Pigott JD, Choe EU, et al. Adrenomedullin Mediates Coronary Vasodilation through Adenosine Receptors and K_{ATP} Channels. *J Surg Res* 1997; 67: 163-8.
28. Nakamura M, Yoshida H, Makita S, Arakawa N, Ninuma H. Potent and long-lasting vasodilatory effects of adrenomedullin in humans. Comparisons between normal subjects and patients with chronic heart failure. *Circulation* 1997; 95: 1214-21.
29. Szokodi I, Kinnunen P, Tavi P, Weckstrom M, Toth M. Evidence for cAMP-independent mechanisms mediating the effects of adrenomedullin, a new inotropic peptide. *Circulation* 1998; 97: 1062-70.
30. Ikenouchi H, Kangawa K, Matsuo H, Hirata Y. Negative inotropic effect of adrenomedullin in isolated adult rabbit cardiac ventricular myocytes. *Circulation* 1997; 95: 2318-24.
31. He H, Bessho H, Fujisawa Y, et al. Effects of a synthetic rat adrenomedullin on regional hemodynamics in rats. *Eur J Pharmacol* 1995; 273: 209-14.
32. Lainchbury JG, Cooper GJ, Coy DH, Jiang NY, Lewis LK. Adrenomedullin: a hypotensive hormone in man. *Clin Sci* 1997; 92: 467-72.
33. Meeran K, O'shea D, Upton PD, Small CJ, Ghatei MA. Circulating adrenomedullin does not regulate systemic blood pressure but increases plasma prolactin after intravenous infusion in humans: a pharmacokinetic study. *J Clin Endocrinol Metab* 1997; 82: 95-100.
34. Jougasaki M, Aarhus LL, Heublein DM, Sandberg SM, Burnett JC. Role of prostaglandins and renal nerves in the renal actions of adrenomedullin. *Am J Physiol* 1997; 272: F260-6.
35. Majid DS, Kadowitz PJ, Coy DH, Nawar LG. Renal responses to intra-arterial administration of adrenomedullin in dogs. *Am J Physiol* 1996; 270: F200-5.
36. Hirata Y, Hayakawa H, Suzuki Y, et al. Mechanisms of adrenomedullin-induced vasodilation in the rat kidney. *Hypertension* 1995; 25: 790-5.
37. Kanazawa H, Kawaguchi T, Kamoi H, et al. Calcitonin gene-related peptide antagonizes the protective effect of adrenomedullin on histamine-induced bronchoconstriction. *Clin Exp Pharmacol Physiol* 1996; 23: 472-5.
38. Murphy TC, Samson WK. The novel vasoactive hormone, adrenomedullin, inhibits water drinking in the rat. *Endocrinology* 1995; 136: 2459-63.
39. Samson WK, Murphy TC. Adrenomedullin inhibits salt appetite. *Endocrinology* 1997; 138: 613-6.
40. Martinez V, Cuttitta F, Tache Y. Central action of adrenomedullin to inhibit gastric emptying in rats. *Endocrinology* 1997; 138: 3749-55.
41. Takahashi H, Watanabe TX, Nishimura M, Nakanishi T, Sakamoto M, Yoshimura M. Centrally induced vasopressor and sympathetic responses to a novel endogenous peptide, adrenomedullin, in anesthetized rats. *Am J Hypertens* 1994; 7: 478-82.
42. Samson WK, Murphy TC, Resch ZT. Central mechanisms for the hypertensive effects of preproadrenomedullin-derived peptides in conscious rats. *Am J Physiol* 1998; 274: R1505-9.
43. Allen MA, Smith PM, Ferguson AV. Adrenomedullin microinjection into the area postrema increases blood pressure. *Am J Physiol* 1997; 272: R1698-703.
44. Vesely DL, Blankenship M, Douglass MA, McCormick MT, Rodriguez-Paz G, Schocken DD. Atrial natriuretic peptide increases adrenomedullin in the circulation of healthy humans. *Life Sci* 1996; 59: 243-54.
45. Fukuhara M, Tsuchihachi T, Abe I, Fujishima M. Cardiovascular and neurohormonal effects of intravenous adrenomedullin in conscious rabbits. *Am J Physiol* 1995; 269: R1289-93.
46. Khan AI, Kato J, Ishiama Y, Kitamura K, Kangawa K, Eto T. Effect of chronically infused adrenomedullin in two-kidney, one-clip hypertensive rats. *Eur J Pharmacol* 1997; 333: 187-90.
47. Khan AI, Kato J, Ishiama Y, Kitamura K, Kangawa K, Eto T. Effect of chronically infused adrenomedullin in two-kidney, one-clip hypertensive rats. *Eur J Pharmacol* 1997; 333: 187-90.
48. Yamaguchi T, Baba K, Doi Y, Yano K. Effect of adrenomedullin on aldosterone secretion by dispersed rat adrenal zona glomerulosa cells. *Life Sci* 1995; 56: 379-87.
49. Mazzocchi G, Rebuffat P, Gottardo G, Nussdorfer GG. Adrenomedullin and calcitonin gene-related peptide inhibit aldosterone secretion in rats, acting via a common receptor. *Life Sci* 1996; 58: 839-44.
50. Andreis PG, Mazzocchi G, Rebuffat P, Nussdorfer GG. Effects of adrenomedullin and proadrenomedullin N-terminal 20 peptide on rat zona glomerulosa cells. *Life Sci* 1997; 60: 1693-7.
51. Andreis PG, Neri G, Prayer-Galetti T, Rossi GP, Gottardo G, Malendowics LK. Effects of adrenomedullin on the human adrenal glands: an in vitro study. *J Clin Endocrinol Metab* 1997; 82: 1167-70.
52. Mazzocchi G, Musajo F, Neri G, Gottardo G, Nussdorfer GG. Adrenomedullin Stimulates Steroid Secretion by the Isolated Perfused Rat Adrenal Gland In Situ: Comparison With Calcitonin Gene-Related Peptide Effects. *Peptides* 1996; 17: 853-7.
53. Kitamura K, Ichiki Y, Tanaka M, et al. Immunoreactive adrenomedullin in human plasma. *FEBS Lett* 1994; 341: 288-90.
54. Cheung B, Leung R. Elevated plasma levels of human adrenomedullin in cardiovascular, respiratory, hepatic and renal disorders. *Clin Sci* 1997; 92: 59-62.
55. Ishimitsu T, Nishikimi T, Saito Y, et al. Plasma levels of adrenomedullin, a newly identified hypotensive peptide, in patients with hypertension and renal failure. *J Clin*

- Invest 1994; 94: 2158-61.
56. Kohno M, Hanehira T, Kano H, et al. Plasma adrenomedullin concentrations in essential hypertension. *Hypertens* 1996; 27: 102-7.
57. Tanaka M, Kitamura K, Ishizaka M, et al. Plasma adrenomedullin in various diseases and exercise-induced change in adrenomedullin in healthy subjects. *Intern Med* 1995; 34: 728-33.
58. Ishimitsu T, Nishikimi T, Matsuoka M, et al. Behaviour of adrenomedullin during acute and chronic salt loading in normotensive and hypertensive subjects. *Clin Sci* 1996; 91: 293-8.
59. Shimokubo T, Sakata J, Kitamura K, Kangawa K, Matsuo H, Eto T. Adrenomedullin: changes in circulating and cardiac tissue concentration in Dahl salt-sensitive rats on a high-salt diet. *Clin Exp Hypertens* 1996; 18: 949-61.
60. Nishikimi T, Saito Y, Ishimitsu T, et al. Increased Plasma Levels of Adrenomedullin in Patients With Heart Failure. *J Am Coll Cardiol* 1995; 26: 1424-31.
61. Kobayashi K, Kitamura K, Eto T, et al. Increased plasma adrenomedullin levels in chronic congestive heart failure. *Am Heart J* 1996; 131: 994-8.
62. Kato J, Kobayashi K, Eto T, et al. Plasma adrenomedullin concentration in patients with heart failure. *J Clin Endocrinol Metab* 1996; 81: 180-3.
63. Jougasaki M, Rodeheffer RJ, Redfield MM, Yamamoto K, Wei CM. Cardiac secretion of adrenomedullin in human heart failure. *J Clin Invest* 1996; 97: 2370-6.
64. Kobayashi K, Kitamura K, Hirayama N, et al. Increased plasma adrenomedullin in acute myocardial infarction. *Am Heart J* 1996; 131: 676-80.
65. Yoshiyoshi M, Kamiya T, Kitamura K, Saito Y, Kangawa K. Plasma Levels of Adrenomedullin in Primary and Secondary Pulmonary Hypertension in Patients <20 Years of Age. *Am J Cardiol* 1997; 79: 1556-8.
66. Washimine H, Yamamoto Y, Kitamura K, et al. Plasma concentration of human adrenomedullin in patients on hemodialysis. *Clin Nephrol* 1995; 44: 389-93.
67. Sato K, Hirata Y, Imai T, Iwashina M, Marumo F. Characterization of immunoreactive adrenomedullin in human plasma and urine. *Life Sci* 1994; 57: 189-94.