

Erken Sirozlu Vakalarda Volüm Regülasyonunda Endojen Digoksin Benzeri İmmunoreaktif Madde(ler) ve Renin-Aldosteron

Dr. Hakan BOZKAYA, Dr. Özden UZUNALİMOĞLU,
Dr. Ali ÖZDEN, Dr. Cihan YURTAYDIN

Özet Digoksin antikorları ile kros-reaksiyon veren Digoksin benzeri immünreaktif madde(ler)in (EDLIS= Endogenous Digoxin-Like Immunoreactive Substances), $\text{Na}^+ \text{-K}^+$ ATP az enzimini inhibe ederek natriüretik etki gösterebileceği bilinmektedir. Bu çalışmada erken sirozlu vakaların akut volüm regülasyonunda EDLIS ve Renin-Aldosteron sisteminin rolü sınanmıştır. Çalışmada 6 post-hepatitik siroz ve 6 sağlıklı kontrolün Plazma Renin Aktivitesi (PRA), plazma aldosteron ve plazma EDLIS düzeyleri, bazal ve 2 litre normal salin infüzyonunu takip eden 4 saatlik peryotta değerlendirildi. Sirotiklerle karşılaştırıldığında, kontrol grubunda 24 saatlik üriner sodyum atılımı belirgin olarak yüksekti($p<0.05$). Sirotiklerde infüzyon ve postinfüzyon peryotta akut salin yüklenmesine, baskılanmış bir natriüretik yanıt vardı($p<0.05$). Sirotiklerde bazal PRA düzeyleri ($2.22 \pm 0.8 \text{ ng/ml/saat}$) kontrol grubuna göre ($0.6 \pm 0.3 \text{ ng/ml/saat}$) anlamlı olarak yüksek idi($p<0.05$). Sirotiklerde kontrole göre bazal plazma aldosteron düzeyindeki yükseklik (149.42 ± 23.81 karşı $98.88 \pm 18.65 \text{ pg/ml}$) istatistiksel anlam taşımıyordu. Infüzyonu izleyen dönemde plazma aldosteronu her iki grupta benzer azalma gösterdi. PRA'deki baskılanma kontrol grubunda belirgin iken sirotiklerde istatistiksel anlam taşımayan bir baskılanma vardı. Bazal EDLIS konsantrasyonları sirozlu ve kontrol grubundakilerde benzerdi(0.11 ± 0.8 ve 0.1 ± 0.1). Infüzyonun 1. saatinde sirotiklerin EDLIS düzeylerindeki anlamlı artışı($p<0.01$), 2 ve 3. saatteki baskılanma sirotiklere

Summary: ENDOGENOUS DIGOXIN-LIKE IMMUNOREACTIVE SUBSTANCE (S) (EDLIS) AND RENIN-ALDOSTERON IN VOLUME REGULATION OF PATIENTS WITH EARLY CIRRHOSIS

Endogenous digoxin-like immunoreactive substance(s) (EDLIS), which crossreact with digoxin antibody, have been found to have natriuretic effect and $\text{Na}^+ \text{-K}^+$ ATPase inhibitory effect. In this study, the role of EDLIS and renin-aldosterone system in acute volume regulation of patients with early cirrhosis of the liver was investigated. Six healthy volunteers and six patients with posthepatic cirrhosis were included. Basal levels and alterations over a four hour-period following an intravenous infusion of 2 L of normal saline were determined for plasma renin activity, plasma aldosterone and EDLIS, 24 hr urinary sodium excretion was significantly higher in the control group compared with cirrhotics ($p<0.05$). During the infusion and postinfusion period, there was a blunted natriuretic response to acute saline load in cirrhotics ($p<0.05$). Basal PRA levels were higher in cirrhotics ($2.22 \pm 0.8 \text{ ng/ml}$) compared with controls ($0.6 \pm 0.3 \text{ ng/ml}$). Basal aldosterone levels were higher in cirrhotics ($149.42 \pm 23.81 \text{ pg/ml}$) compared with controls ($98.88 \pm 18.65 \text{ pg/ml}$), but this lacked statistical significance. Plasma aldosterone levels were reduced to a similar extent in both groups. Plasma renin activity decreased significantly in the control group while this lacked statistical significance in cirrhotics. Basal EDLIS concentrations were similar in

akut salin yüklenmesine anormal bir EDLIS yanıtı olduğunu gösterdik. Bu anormal paternden, sodyum ve su balansının efektör sistemleri ile EDLIS arasındaki bazı kompleks interaksiyonlar sorumlu olabilir.

cirrhotics and control (0.11 ± 0.8 and 0.1 ± 0.1 n mol/L, respectively). In cirrhotics, increased EDLIS levels were found at the first hour ($p < 0.01$) and there was a significant reduction in the plasma EDLIS levels at the second and third hours in contrast with the control group ($p < 0.05$). Our study demonstrated an abnormal EDLIS response to acute saline load in cirrhotics. It is suggested that some complex interactions between the components of the effector system of sodium and water balance and EDLIS may be responsible for this abnormal pattern.

Anahtar Kelimeler: Siroz, Natriüretik Hormon, Endojen digoksin benzeri immunreaktif madde(ler).

Key words: Cirrhosis, Natriuretic Hormone, Endogenous Digoxin-like Immunoreactive Substances

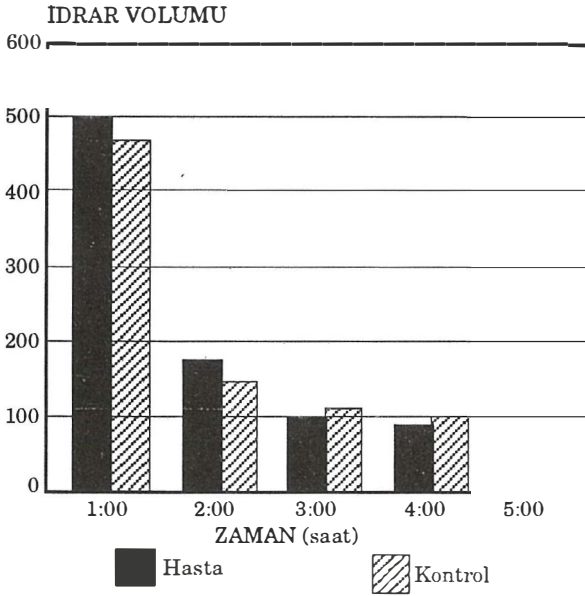
Anti-digoksin antikorları ile kros-reaksiyon veren EDLIS, digoksin RIA yöntemi ile insan ve hayvanların çeşitli doku ve vücut sıvılarında saptanmıştır. Sağlıklı kontrol, hipertansifler ve tuz yüklenen sağlıklı insanların kan ve idrarlarında ölçülebilir düzeyde EDLIS bulunmaktadır (7,8). Daha yüksek düzeyler ise gebeler, yenidoğan, renal, hepatik kardiyak yetersizliklerde bildirilmiştir (4, 9, 15, 19, 23). Eksperimental çalışmalar ve teorik yaklaşımlar, EDLIS'in kardiyak glikozid antikorları ile reaksiyon vermesinin yanı sıra, kardiyak glikozidlerin spesifik sellüler reseptörüne bağlanıp membran Na^+ - K^+ ATPaz inhibisyonu yapabileceğini düşündürmektedir (2). EDLIS, membran Na^+ - K^+ pompasının endojen bir modulatorü olabilir ve vücut sıvı-elektrolit balansı ile ilgili kimi anomalilerin patofizyolojisinde rol oynayabilir. Na^+ pompası inhibisyonu, intrasellüler Na^+ konsantrasyonunu artırır. Bu da transsellüler Na^+ - Ca^{++} değişimine yol açarak bir yandan intrasellüler Ca^{++} konsantrasyonunu artırırken, Na^+ un hücre dışına çıkışına neden olur. Renal tubullerde bu yönde bir mekanizma natriürez ile sonuçlanacaktır.

Gruber ve arkadaşları, salin yüklenmiş köpeklerin kanında, hem digoksin benzeri immunreaktivite hem de Na^+ pompası inhibisyo-

nu özelliğine sahip bir maddenin bulunduğunu gösterdiler (10). Gault ve arkadaşları da 5 günlük yüksek Na^+ diyeti ve intravenöz salin verilmesi ile ılımlı hipertansiyonlu 12 hastada ortalama EDLIS plazma düzeylerinde artış saptadılar (7). Bazı yazarlar da spirinolakton tedavisi altındaki sirotiklerde, yalancı-pozitif artmış digoksin düzeyleri bildirdiler (19). Enfeksiyöz hepatit, alkolik karaciğer hastalığı, yağlı karaciğer ve metastatik tümörlerde de artan düzeyler bildirildi (22, 23). Sodyum ve su balansının sağlanmasında rol oynayan renal mekanizmalardaki yetersizliğin, kronik karaciğer hastalığı zemininde ortaya çıkan asit ve periferik ödem formasyonunda rolü olabileceği iyi bilinmektedir. Karaciğer hastalığı zemininde yetersiz Na^+ ve su atılımı nedeniyle artan intravasküler volümü kompanse etmeye yönelik bir EDLIS hipersekresyonu söz konusu olabilir. Bu çalışmada erken sirozlu vakalarda EDLIS in akut volüm regülasyonundaki rolü araştırıldı.

MATERYAL ve METOD

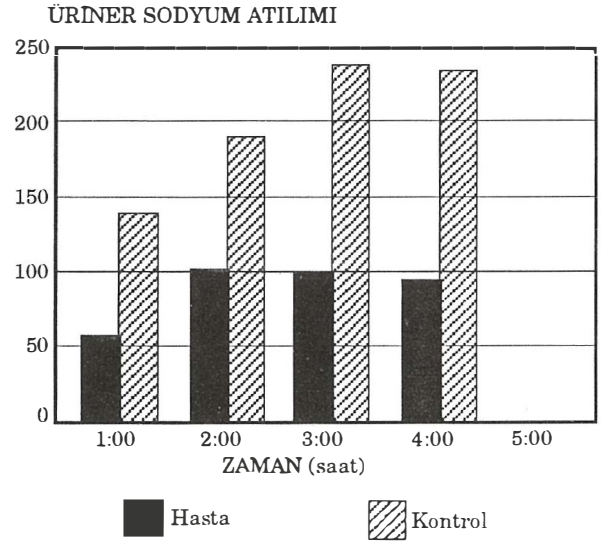
Çalışmaya, yaşları 29 ve 55 arasındaki 6 sağlıklı kontrol ve 31 ve 62 arasında 6 posthepatitik sirozlu hasta dahil edildi. Hastalarda kardiyovasküler, renal, pulmoner bir hastalığa ait herhangi bir kanıt yoktu. Tüm hasta-



Figür 1

larda siroz tanısı klinik ve laboratuvar bulgularının yanı sıra, karaciğer biyopsi materyallerinin histopatolojik değerlendirilmesi ile konuldu. Hiçbir hastada ultrasonografik olarak asit yoktu. Tüm hastalarda ultrasonografik olarak portal sistem konjesyonu ve endoskopik olarak en çok 1° özafagus varisi ile karakterli, portal hipertansiyon bulguları mevcuttu. Tüm hastalarda serum albumin konsantrasyonu 3.5 gr/dl'nin üzerindeydi. Bir hastanın protrombin zamanı 16 sn iken diğerleri 15 sn'nin altında idi. Bir hastada da total bilirubin düzeyi 1.7, diğerleri normal sınırlardaydı. (0.0-1.5 mg/dl). Hiçbir hasta diüretik veya vazoaktif ilaç almıyordu. Test gününden 5 gün önce-sinden başlamak üzere hasta ve kontrol grupları 100 mmol/gün Na^+ diyetine alındı. Test günü saat 9.00 da plazma aldosteron, PRA, EDLIS için kan örnekleri alındı. 90 dakika içinde 2 litre normal salin intravenöz infüzyonla verildi. İnfüzyon başlangıcından itibaren 4 saat süreyle saat başı olmak üzere idrar volümü, üriner Na^+ konsantrasyonu, PRA(16), plazma aldosteron (17), EDLIS (24) düzeyleri ölçüldü.

Sonuçlar ortalama $\pm$ standart sapma olarak



Figür 2

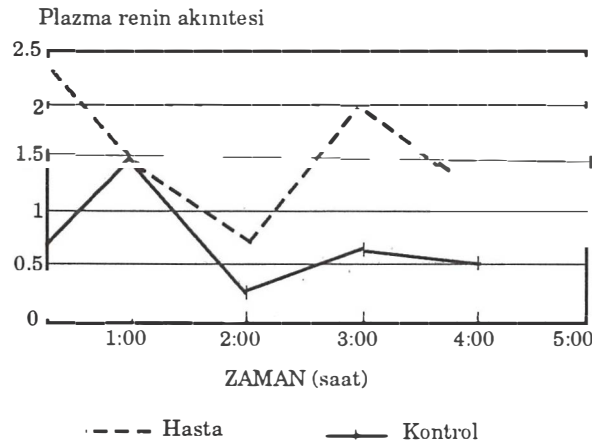
verildi. Herbir grup içindeki istatistiksel analiz Wilcoxon testi, gruplar arasındaki değerlendirme de Mann-Whitney u testi ile gerçekleştirildi.

BULGULAR

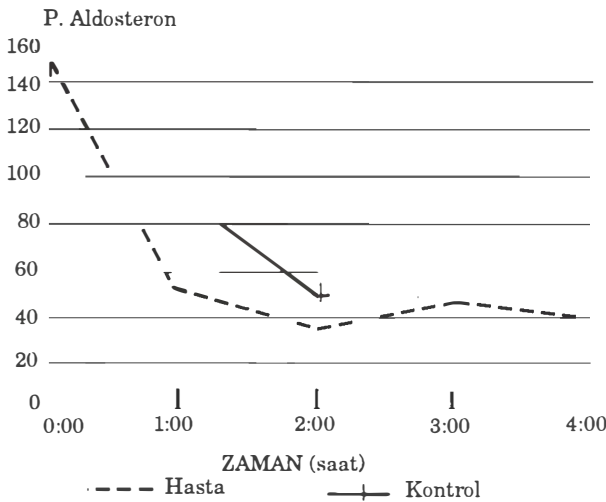
Test gününden 1 gün önce başlayan 24 saatlik idrar volümü, sirotikler (1116.67 ± 278.61 ml) kontrol grubu (1383.33 ± 213.70 ml) ile kıyaslandığında anlamlı fark söz konusu değildi. İnfüzyon süresince ve postinfüzyon periyotta, idrar volümü olarak heriki grup arasında istatistiksel fark yoktu (Figür 1).

24 saatlik üriner Na^+ atılımı kontrol grubunda sirotiklere kıyasla belirgin olarak yüksekti (146 ± 66.49 karşı 46.67 ± 23.81 mmol/1) ($p < 0.05$). Heriki grupta da infüzyonun 1. saatinde üriner Na^+ atılımı arttı. İnfüzyon ve postinfüzyon periyotta akut salin yüklenmesine karşı sirotiklerde baskılanmış bir natriüretik yanıt söz konusu idi ($p < 0.05$) (Figür 2).

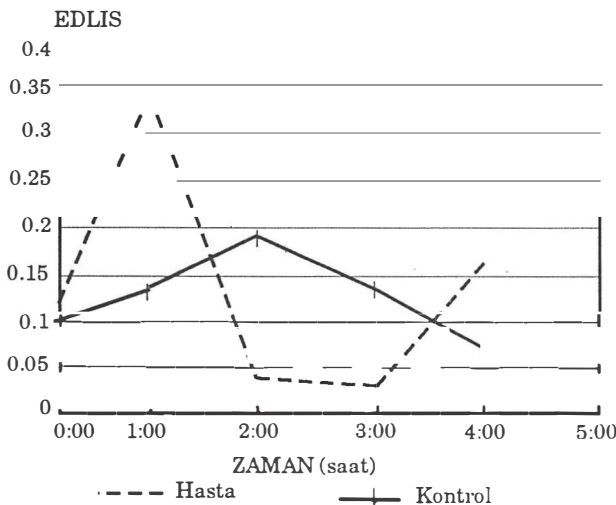
Bazal PRA sirotiklerde belirgin olarak yüksekti (2.22 ± 0.8 karşı 0.6 ± 0.3 ng/ml/saat) ($p < 0.05$). Kontrol grubunda 2 ve 3. saatlerde



Figür 3



Figür 4



Figür 5

Tablo I: Bazal değerleri karşılaştırılması

	KONTROL X±SD	HASTA X ± SD	*
24 Saatlik idrar Volümü (ml)	1383,33±213, 7	1116,67±278,6 9	NS
24 Saatlik idrar Sodyumu (mmol/L)	146±66,49	46,67±23,8	p<0.05
PRA (ng/ml/saat)	0,6±0,3	2,22 ± 0,8	p<0.05
P.Aldosterone (pg/ml)	98,88 ± 18,65	149,42 ± 95,07	NS
EDLIS (nmol/L)	0,1±0,1	0,11 ± 0,08	NS

*:Kontrollere karşı hastalar NS: Nonsignificant

anlamlı bir baskılanma mevcut iken ($p<0.01$), 2,3 ve 4. saatlerdeki PRA düzeyleri sirotiklerde daha yüksekti ($p<0.05$) (Figür 3). Bazal plazma aldosteron düzeyleri sirotiklerde kontrole göre yüksek olmakla birlikte (149.42 ± 95.07 karşı 98.88 ± 18.65 pg/ml) istatistiksel anlam taşııyordu. Kontrol ve sirotiklerde aldosteron düzeylerinde bazal değere göre 2. saatte ortaya çıkan belirgin baskılanma ($p<0.01$) (Figür 4), heriki grupta benzerdi.

Bazal EDLIS değerleri sirotik ve kontrollerde istatistik farklılık taşııyordu (0.11 ± 0.08 karşı 0.1 ± 0.1 nmol/l). Kontrol grubunda 2. saatte istatistiksel anlamlı olmayan bir artış mevcuttu. Sirotiklerde 1. saatte belirgin EDLIS artışı söz konusu iken ($p<0.01$), kontrol grubu ile kıyaslandığında 2 ve 3. saatlerde plazma EDLIS düzeylerinde belirgin bir azalma dikkati çekiyordu ($p<0.05$) (Figür 5).

TARTIŞMA

Çeşitli immünojik yöntemlerle serum digoksin düzeylerinin monitörizasyonunun klinik uygulamaya girmesinden bu yana çeşitli araştırmacılar amniyotik sıvı, umbilikal kord serum ve gebe kadınlarda yalancı-pozitif art-

mış düzeyler bildirdiler (2). Önceleri bu bulgular yöntemle ilgili kabul edilmekte idi. Bununla birlikte Flier ve arkadaşları, -Bufo Marinus-'ların serumlarının hem radyoreseptör hem de RIA ile kardiyak glikozidleri ile kros-reaksiyon verdiğini gösterdiler (6). Gruber ve arkadaşları salin yüklenmiş köpeklerin serumlarında hem digitalis benzeri immünreaktivite hem de Na^+ - K^+ ATPaz inhibisyonu özelliğine sahip bir madde saptadılar (10). Bu ve diğer verilerin eşliğinde çeşitli otürler, insan ve hayvanların doku ve vücut sıvılarında bulunan endojen bir maddenin, digoksin için spesifik antikörlara bağlanma özelliği ile birlikte membran Na^+ - K^+ ATPaz enzimini kompetitif inhibe edebileceğini speküle ettiler (4,7,9). Bazı yazarlar endojen bir Na^+ - K^+ ATPaz inhibitörünün bir natriüretik hormon olabileceğini ileri sürdüler (3).

Bugün için iki ayrı endojen natriüretik faktörün varlığı bilinmektedir: Atrial Natriüretik Peptidler (ANP) ve Endojen Digoksin Benzeri immünreaktif Madde(Endogenous Digoxin-Like Immunoreactive Substance=EDLIS). ANP, insan ve hayvanlarda natri/diürez, kan basıncında düşme yapan bir peptiddir; digoksin antikörları ile kros-reaksiyon vermez ve Na^+ pompası inhibisyonu yapmaz(14). EDLIS ise muhtemelen küçük molekül ağırlıklıdır ($\text{MA}<500$ dalton); peptid yapılı olmayıp natri/diüreze yolaçarken kan basıncını artırır (3,11). Ne yazık ki EDLIS'in kimyasal yapısı halen iyi bilinmemektedir. Muhtemelen hipotalamus ve/veya adrenal de sentezlenip dolaşıma katılmaktadır (3,11,13).

Sirozda sodyum ve su retansiyonunun patogenezi, uzun süredir araştırmaların önemli bir ilgi konusu olarak süregelmektedir. 2 teori kapsamındaki mekanizmalar (3. bir teori olan periferik arteriyel vazodilatasyon teorisi de aynı efektör mekanizmaları farklı bir hiyerarşi ile kabul eder) sirozdaki su-tuz retansiyonunun patofizyolojisini açıklamaya çalışır. Klasik "**underfilling**" teorisi, başlangıç ola-

rak hepatik venöz blok ve portal hipertansiyonun asit formasyonuna neden olduğunu kabul eder(1). Abdominal kaviteye doğru sodyum ve sıvı transudasyonu, intravasküler volümü azaltarak **sekonder** olarak renal sodyum ve su retansiyonuna yol açar. Bu klasik teori ilk olarak Lieberman ve arkadaşlarınca değiştirilmiştir(12). Bu araştırmacılar asit formasyonunun, "**primer**" renal sodyum ve su retansiyonuna ikincil olduğunu ileri sürmüşlerdir ("**Overflow teorisi**"). Bu teoriye göre primer su-tuz retansiyonu ile artan intravasküler volüm sonucu abdominal kaviteye transudasyon olmaktadır. Belirgin su retansiyonu olmayan kompanse sirozlu (erken siroz)lularda volüm yüklenmesini takiben yetersiz bir natriüretik ve diüretik yanıt söz konusudur (5,21). Erken sirozlu vakalardaki bu yetersiz natriüretik yanıt, overflow teorisi için güçlü bir kanıt teşkil ediyor olabilir. Bu noktada erken sirozlu vakaların volüm yüklenmesine verdikleri natriüretik yanıtın regülasyonunda endojen bir natriüretik faktör önemli rol oynayabilir. Erken sirozlu vakalarda bir natriüretik hormon eksikliği veya buna karşı yanıtsızlık asit fizyopatolojisinin bir yönünü teşkil ediyor olabilir. Ya da asit teşekkül etmiş vakalarda yetersiz bir natriüretik hormonca yetersiz kompensasyon sıvı balansının giderek bozulması ile sonuçlanabilir.

Sirozda azalmış natriürezden sorumlu olabilecek diğer faktör Renin-Aldosteron sistemi olduğundan, PRA ve aldosteron düzeyleri de çalışma kapsamına alındı. Salin yüklenmesini takiben kontrol grubunda 2,3,4. saatlerde PRA'da ortaya çıkan baskılanma, sirotiklerde daha az belirgindi. Diğer yandan aldosteron düzeylerindeki baskılanma heriki grupta benzerdi. Sirotiklerdeki Bazal PRA yüksekliği ve volüm yüklenmesine karşı Renin-Aldosteron sistemindeki daha az belirgin baskılanma, azalmış natriürezden sorumlu olabilmekle beraber tek faktör alması gerektir. Çünkü natriürezdeki artış her zaman Renin-Aldosteron sistemindeki baskılanma ile paralelizm göstermez(1).

Çeşitli çalışmalarda kronik karaciğer hastalarında yüksek serum EDLIS düzeyleri bildirilmiştir(19,22,23). Daha yeni bir çalışmada, dekompanse sirozlulara kontrast olarak iyi kompanse sirozlularda artmış üriner EDLIS düzeyleri gösterilememiştir (20). Bizim çalışmamızda da bazal EDLIS düzeyleri kontrol grubuna göre fark göstermiyordu. İkinci aşamada, salin yüklenmesi ile daha ciddi bir volüm distürbansı gerçekleştirildi. Böylece teorik olarak sodyum retansiyonu yapan faktörleri antagoneze edecek olan EDLIS düzeyinde bir artış olup olmayacağı sınıandı. Nitekim infüzyonun 1. saatinde sirotiklerde artmış EDLIS düzeyleri saptandı. Kontrol grubunda ise daha geç(2. saat) ve belirgin olmayan bir artış mevcuttu. Bu bulgularla, EDLIS gerçekten bir natriüretik faktör gibi davranıyorsa EDLIS eksikliğinin erken sirozlu vakalarda azalmış natriürezden sorumlu olamayacağı ortaya çıkmaktadır. Ancak bu durumda EDLIS'e karşı bir renal duyarsızlık eldeki verileri açıklayabilir. Nitekim sirozda, diğer bir natriüretik faktör olan ANP'e karşı bir renal yanıtsızlık olduğuna dair güçlü kanıtlar mevcuttur(21). 1 ve 3. saatlerdeki EDLIS düzeyleri dikkate alındığında daha komplike spekülasyonlar yapılabilir. Vücut sıvı balansı idamesinin sağlanmasında en önemli mekanizma sodyum ve su atılımıdır. Sodyum ve su ekskresyonunun "afferent" (sensory) komponenti veya EDLIS sekresyonu ile ilgili bir anormali, 1 ve 3. saat bulgularını açıklayabilir. **Sensory** sistemle ilgili henüz iyi tanımlanmamış bazı mekanizmalar, 1. saatte anormal ola-

rak yüksek EDLIS sekresyonuna yol açıyor olabilir. 1. saati takiben değişen hemodinamik durumla ilgili refleks arklar ve/veya EDLIS sekresyon eşiğinin yükselmesi yönündeki değişiklikler, 3. saat bulgularına neden olabilir. "Afferent" (sensory) sistem intratorasik, arteriyel reseptörler, interstisyel baroreseptörler, hepatik ve portal ven reseptörleri ve intrarenal reseptörleri içerir. Karaciğer hastalığında reseptör yapısındaki değişiklikler, değişen hemodinamik parametreler ve iyi bilinmeyen refleks arklar, "afferent" komponent tarafından uyarılan natriüretik hormon sekresyonunda bazı anomalilere neden olabilir. Sodyum ve sıvı volüm homeostazının "efferent" komponentini ise renal sinirler, renin-aldosteron sistemi, antidiüretik hormon, ANP, renal prostaglandinler, kallikrein-kinin sistemi ve dopamin oluşturur. 1. saatteki artmış EDLIS düzeylerine rağmen yetersiz natriürez EDLIS'a karşı bir renal duyarsızlıkla ilişkili ise, efektör sistem komponentleri ve EDLIS arasındaki ilişkiler detaylı olarak araştırılmalıdır.

Bu olasılıkların dışında, gerçekte EDLIS bir natriüretik faktör gibi davranmıyor olabilir. Ancak bizim çalışmamız sirotiklere akut salin yüklenmesine anormal bir EDLIS yanıtının varlığını ortaya koymuştur. Bu anormal patternin karaciğer hastalığı zemininde ortaya çıkan sodyum ve sıvı balansı anomalileri ile ne ölçüde ilişkili olduğunun ortaya konabilmesi için EDLIS'ın fiziksel, biyokimyasal ve farmakolojik özellikleri hakkında daha çok şey bilmemiz gerekmektedir.

KAYNAKLAR

1. Arroyo V, Baddalamenti S, Gines P: Pathogenesis of asoites in cirrhosis. *Min Med* 1987; 78: 645-650.
2. Clerico A: Digoxin-like immunoreactivity, Endogenous Cardiac Glycoside-like Factor(s) and Natriuretic Hormone: More than a hypothesis. *J Nucl Med Allied Sci* 1987; 31:341-356.
3. De Wardener HE, Clarkson EM: Concept of natriuretic hormone. *Physiol Rev* 1985; 65:658-745.
4. Ebara H, Suzuki S, Nagashima K, et al.: Digoxin

and digitoxin-like immunoreactive substances in amniotic fluid, cord blood and serum of neonates. *Pediatr Res* 1986; 20:28-31.

5. Epstein M: The sodium retention of cirrhosis: A reappraisal. *Hepatology* 1986;6: 312-315.
6. Flier JS, Marato-Flier E, Pallatlo JA, Mc Isaac D: Endogenous digitalis-like activity in the plasma of the toad *Bufo Marinus*. *Nature* 1979; 279: 341-343.
7. Gault MH, Vasdev SC, Longerich LL, et al: Plasma digitalis-like factor(s) increase with salt loading. *Eng J Med* 1983; 309: 1459.

8. Ghione S, Balzan S, Montali U, et al.: Plasma digoxin-like immunoreactivity in essential hypertension: relation to plasma renin activity. *J Hypertension* 1983; 1(Suppl 2): 142-144.
9. Graves SW, Valdes R, Brown BA, et al.: Endogenous digoxin-like immunoreactive substance in human pregnancies. *J Clin Endocrinol and Metab* 1984; 58: 748-751.
10. Gruber KA, Whitaker JM, Buckalew VM Jr: Endogenous digoxin-like substance in plasma of volume expanded dogs. *Nature* 1980; 287: 1-3.
11. Haddy FJ: Endogenous digoxin-like factor or factors. *N Eng J Med* 1987; 316: 621-622.
12. Henriksen JH: The overflow theory of ascites formation: a fading concept? *Scan J Gastroenterol* 1983; 18: 833-837.
13. Kelly RA, O'Hara DS, Canessa ML, et al.: Characterization of digitalis-like factors in human plasma. *J Biol Chem* 1985; 260: 11396-11405.
14. Laragh JH, Atlas SA: Atrial Natriuretic Hormone: a regulator of blood pressure and volume homeostasis. *Kidney Int* 1988; 25: 64-71.
15. Madrenas J, Codina S, Monne J, et al.: Digoxin-like immunoreactivity in the serum of patients on regular hemodialysis. *Nephron* 1986; 43: 303-304.
16. Malvano R: Measurement of plasma renin activity by angiotensin 1 radioimmunoassay: an assesment of some methodological aspects. *J Nucl Biol Med* 1972; 16: 24.
17. Mayes D, Furuyama S, Kem DC, Nugent CA: A radioimmunoassay for plasma aldosterone. *J Clin Endocrinol Metab* 1970;30:682-685.
18. Shilo L, Adawi A, Solomon G, Shenkman L: Endogenous digoxin-like immunoreactivity in congestive heart failure. *Br Med J* 1987; 295: 415-416.
19. Shilo L, Shapiro MS, Dolev S, Shenkman L: Endogenous digoxin-like material in patients with liver disease. *Ann Int Med* 1985; 103: 643.
20. Villa GL, Asbent M, Jimenez W, et al.: Natriuretic hormone activity in the urine of cirrhotic patients. *Hepatology* 1990;12: 467-475.
21. Wood LJ, Massie D, Mc Lean AJ, Dudley FJ: Renal sodium retention in cirrhosis: tubuler site and relation to hepatic dysfunction. *Hepatology* 1988;6: 831-836.
22. Yang SS, Hughes RD, Williams R: Digoxin-like immunoreactive substances in severe acute liver disease due to viral hepatitis and paracetamol overdosage. *Hepatology* 1988;8: 93-97.
23. Yang SS, Korula J, Sundheimer JE, Keyser AJ: Digoxin-like immunoreactive substances in chronic liver disease. *Hepatology* 1989; 9: 363-366.
24. Zeegers JJW, Maas AHJ, Willebrands AF et al.: The radioimmunoassay of plasma digoxin. *Clin Chim* 1973;44: 109-117.