

DESCOPERIREA PEPTIDELOR NATRIURETICE

Şef lucr.dr. **Alina Mihaela Pascu**, prof.univ.dr. **Liliana Marcela Rogoza**,
Conf.univ.dr. **Mihaela Elena Idomir**, sef lucr.dr. **Roxana Miclăuş**, şef lucr.dr. **Elena Bobescu**
Facultatea de Medicină, Universitatea „Transilvania” Braşov, România

Abstract:

Natriuretic peptides have a relatively recent history. The discovery of the natriuretic peptides emerged as a breakthrough in the modern cardiovascular physiology and pathology, as the atrial natriuretic peptide (ANP) was the first hormone identified in the myocardium, representing the first evidence of an endocrine role of the heart. This discovery inaugurated a new era in both basic and clinical research, other members of the natriuretic peptides family and also other myocardial peptides (the rennin-angiotensin-aldosterone-vasopressin system) being relatively soon thereafter identified. These are key peptides for the topical conception and understanding of the neuroendocrine regulation of the cardiovascular system. All these contributed to novel diagnostic, prognostic, management, and screening opportunities in cardiovascular diseases, raising perspectives for new and challenging therapeutic options in the same time. Four natriuretic peptides have been identified up to present: A-type (ANP), B-type (BNP), C-type (CNP), D-type (DNP) natriuretic peptides. New members of the natriuretic peptide family continue to be discovered. A relative recent study reported the identification of three novel natriuretic-like peptides in the venom of the Australian inland taipan (*Oxyuranus microlepidotus*). These peptides have been denoted as TNP-a, -b, and -c. The discovery of the natriuretic peptides, along with other neurohormonal systems involved in the neuroendocrine regulation of the cardiovascular system were crucial for the establishment of a novel integrated basic and clinical research field – cardiovascular endocrinology.

Key words: historic, natriuretic peptides, cardiovascular endocrinology.

Introducere

Peptidele natriuretice fac parte dintr-o familie de hormoni peptidici cu activitate natriuretică, similari din punct de vedere structural, dar genetic distincţi (preprohormonul fiecăreia dintre aceste peptide este codificat de o gena distinctă) [3, 22, 25, 37, 43].

În prezent sunt cunoscute şi descrise cel puţin patru peptide natriuretice :

- **ANP** – peptidul natriuretic de tip A, peptidul natriuretic atrial, (*A-type natriuretic peptide*, *atrial natriuretic peptide*);
- **BNP** – peptidul natriuretic de tip B, peptidul natriuretic cerebral, (*B-type natriuretic peptide*, *brain natriuretic peptide*);
- **CNP** – peptidul natriuretic de tip C, (*C-type natriuretic peptide*);
- **DNP** – peptidul natriuretic de tip D, (*D-type natriuretic peptide*, *dendroaspis natriuretic peptide*).

Toate peptidele natriuretice, indiferent de mărimea moleculei lor sau de ţesutul de origine, au în comun caracteristici structurale, care sunt importante pentru efectele lor fiziologice [44]. Una dintre caracteristicile structurale constante, comune tuturor peptidelor natriuretice bilologic active este inelul central format printr-o punte bisulfidică între două

reziduuri de cisteină (Cys) [11, 29, 44]. Acest inel cuprinde 17 aminoacizi la toate peptidele natriuretice cunoscute până în prezent, o parte dintre aceştia fiind comuni moleculelor tuturor peptidelor natriuretice (*Figura 1*) [11, 29, 44].

Au mai fost descrise încă alte două peptide înrudite cu peptidele natriuretice:

- **guanilina;**
- **uroguanilina.**

Aceste două peptide, alcătuite din 15 şi, respectiv, 16 aminoacizi sunt secretate la nivelul mucoasei gastrointestinale, fiind implicate în reglarea locală a transportului de sodiu şi apă şi, de asemenea, în coordonarea absorbţiei intestinale cu ulterioara excreţie renală a sodiului.[11, 26].

Noi membrii ai familiei peptidelor natriuretice continuă să fie descoperiţi. Astfel, un raport recent publicat descrie trei peptide *natriuretic-like* identificate în veninul taipanului Australian (*Oxyuranus microlepidotus*). Aceste peptide au fost denumite, respectiv, TNP-a, -b, -c [13, 35].

Metode

Am studiat istoria descoperirii peptidelor natriuretice prin cercetarea unor documente vechi digitizate, prin studierea editorialelor şi a articolelor disponibile *online* referitoare la evenimentele care au marcat principalele etape ale identificării şi izolării peptidelor natriuretice sau a

receptorilor lor corespunzători sau prin studierea biografiei și activității științifice a autorilor princeps, reprezentativi pentru comunicările originale raportate în literatura de specialitate.

Rezultate

Peptidele natriuretice au o istorie relativ scurtă.

Putem însă să atribuim primele observații cu privire la existența unor factori cu efect diuretic/natriuretic romanilor, care au semnalat și descris efectul diuretic al imersiei în celebrele lor băi (*Caesarea urinatores*), fără însă a avea și o explicație științifică, la acea vreme; nici măcar în secolul al XIX-lea, de când datează descrierea diurezei induse de băile termale, substratul științific al acestui fenomen nu era cunoscut. Astăzi acest efect este ușor de înțeles, dacă ne gândim că imersia, prin creșterea presiunii exercitate asupra membrilor, abdomenului, toracelui, duce la creșterea întoarcerii venoase și, ca urmare, la distensia cavitaților cardiace, ceea ce reprezintă stimulul principal al sintezei și eliberării peptidelor natriuretice [1].

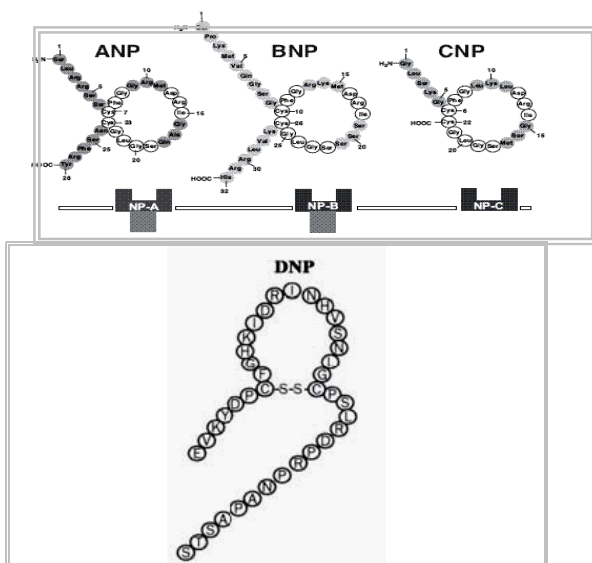


Figura 1. Structurile moleculare secundare ale ANP, BNP, CNP și DNP, indicând și aminoacizii identici din inelul central comun peptidelor natriuretice (în gri). Structura inelară este esențială pentru recunoașterea și legarea de receptorii specifici. ANP = peptidul natriuretic de tip A. BNP = peptidul natriuretic de tip B. CNP = peptidul natriuretic de tip C. DNP = peptidul natriuretic de tip D. NP-A, NP-B, NP-C = receptorii specifici corespunzători ai peptidelor natriuretice, de tip A, B sau C. Modificat și adaptat după Suo M et al. [42], Nakao K et al. [29], Silver MA et al. [38] și Clerico A et al. [4].

Identificarea și izolarea primului peptid natriuretic – ANP, peptidul natriuretic atrial – a fost precedată de o serie de observații separate care semnalau creșterea semnificativă a diurezei induse de supunerea atriului stâng unui regim presional crescut [2, 14, 32].

Ipoteza existenței unui factor natriuretic a fost formulată în anii 1950, când Henry *et al.* [17] au publicat primele dovezi cu privire la implicarea atriilor în controlul excreției urinare, raportând creșterea diurezei după dilatarea unui balon în atriul stâng.

Ceva mai târziu, Davies și Freeman [7] au obținut dovezi despre existența unui factor natriuretic circulant la câinii cu hipervolemie indusă experimental. Pe baza acestor descoperiri s-a presupus că dilatația atriilor ar genera impulsuri care, pe calea nervului vag, ar inhiba eliberarea arginin-vasopresinei (AVP).

De Wardener și Clarkson [10] au arătat că natriureza apare după expansiunea volemică chiar și în absența creșterii ratei filtrării glomerulare sau a unor modificări a ratei secreției aldosteronului.

Alte observații se refereau la identificarea unor granule la nivelul miocardiocitelor atriale, a căror densitate părea să fie influențată de vârsta individului, precum și de proporția apei și a sodiului în dietă [32, 45, 47].

Kirsch [23] a raportat detecția, prin microscopie electronică, a unor granule secretorii în miocitele atriale ale porcușorilor de Guinea, similare granulelor din glandele endocrine. Aceste granule erau adiacente unuia și, ocazional, ambilor poli ai nucleului cardiomiocitelor, fiind împrăștiate printre elementele unui complex Golgi voluminos [15].

Jamieson și Palade au demonstrat că acest tip de granule este prezent în cardiomiocitele atriale ale tuturor mamiferelor, inclusiv la om [20], iar Huet și grupul său au arătat că aceste granule încorporau atât [3 H]-leucină, cât și [3 H]-fucoză, precum și faptul că sinteza acestor proteine are loc la nivelul complexului Golgi [18, 19].

În 1976, Marie *et al.* [28] au demonstrat că gradul de granularitate a acestor cardiomiocite atriale depinde de consumul de apă și sodiu. La acea vreme era cunoscut efectul reglator al AVP și sistemul renină-angiotensină-aldosteron asupra natriurezei, dar s-a crezut că exista

un alt factor (numit factorul III), implicat în natriureză. Observațiile clinice au relevat și faptul că natriureza apărea după tahicardii supraventriculare, ceea ce sugera legătura între "factorul III" și inimă.

Semnificația și rolul fiziologic al acestor granule prezente în miocardul atrial aveau să fie elucidate de către de Bold și colab., care, în 1981, publicau în *Life Science* prima observație legată de peptidele natriuretice, în care arătau că infuzia de extract de țesut atrial la șobolani inducea acestora o natriureză semnificativă (Figura 1.) [8]. Ipoteza acestui studiu s-a bazat pe faptul că numărul granulelor atriale fluctua în funcție de volumul intravascular ceea ce a dus la supoziția că granulele atriale ar putea fi un regulator al volumului intravascular [9, 43].

Cercetările au fost avansate de către Currie *et al.* [5], care au arătat că fracțiunea cu activitate natriuretică co-migra cu un factor care determina relaxarea intestinală. Aceasta a reprezentat o descoperire importantă, care a permis fracționarea și identificarea peptidului natriuretic atrial prin utilizarea relaxării musculaturii netede intestinale ca test de verificare a activității peptidului.

Ulterioara purificare și caracterizare a factorului natriuretic de către mai multe grupuri din întreaga lume a dus la descoperirea factorului natriuretic atrial, primul dintre factorii natriuretici, în 1983 și 1984.

În 1983, molecula de ANP a fost izolată, purificată și s-a stabilit și secvența amino-acizilor din componența sa [12, 16, 21]. de Bold însuși scrie un editorial despre descoperirea sa în numărul 13/2001 al *Journal of American Society of Nephrology* [24], în care articolului lui din *Life Science* este republicat cu comentariile autorului (Figura 2.).

În 1984, la nivelul țesutului atrial a fost identificat, împreună cu precursorii săi, ANP, peptidul natriuretic atrial, primul descris dintre membrii unei familii de peptide cu potențiale proprietăți natriuretice, diuretice și vasodilatatoare [21, 30, 33, 46].

La scurt timp, au fost identificate și alte peptide natriuretice, similare structural și funcțional cu ANP și anume BNP – peptidul natriuretic de tip B – și, respectiv, CNP – peptidul natriuretic de tip C [27, 33, 39, 40].

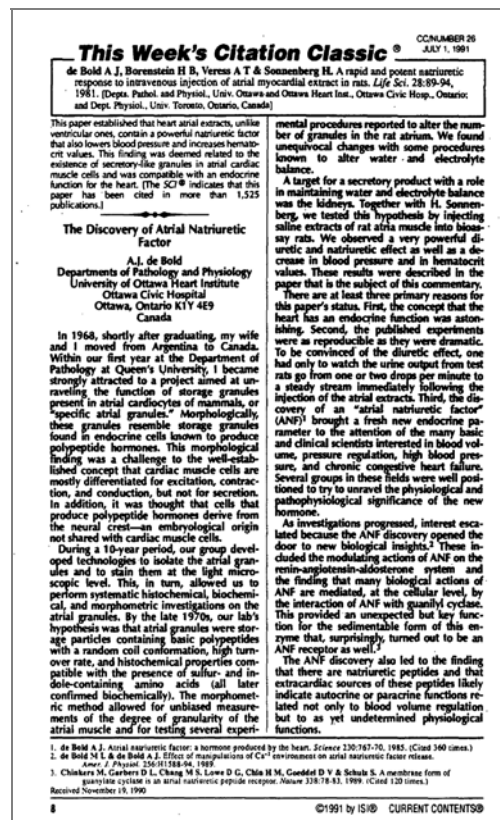


Figura 1. Documentul digitizat al unui anunț-editorial care semnalează prima comunicare a acțiunii natriuretice a unui extract atrial injectat la animalele de experiență, făcută de Bold et al. în *Life science*, 1981; 28 [8].

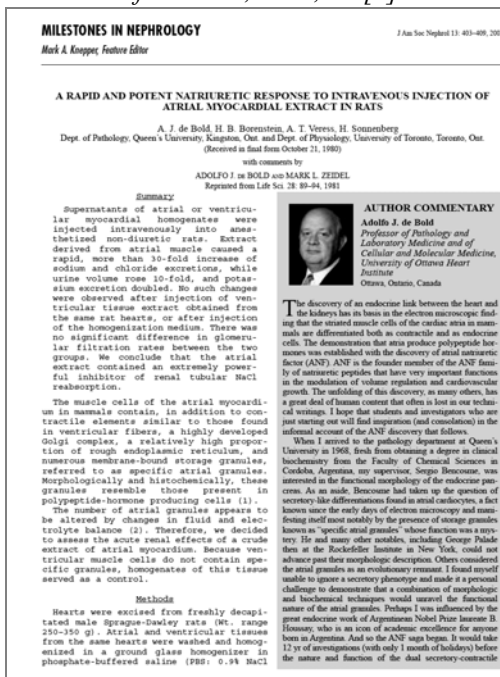


Figura 2. Articolul lui de Bold et al. din *Life Science* este reprodus și comentat de autor într-un amplu editorial publicat în *Journal of American Society of Nephrology*. 2001; 13 [24].

BNP a fost inițial identificat de către Sudoh și colab. în extractele de creier de porc [39], stabilindu-se abia ulterior că sursa principală de BNP este reprezentată de mio-cardiocitele ventriculare (Figura 3.) [6, 31, 42].



Figura 3. Celestial article din nu mai puțin celebra revistă Nature (nr. 332/1988) în care a fost raportată identificarea BNP de către Sudoh și colab [39].

CNP a fost la rândul sau inițial localizat la nivelul sistemului nervos central, tot de către echipa coordonată de Sudoh [40], pentru ca mai târziu să se precizeze că acest peptid este sintetizat și la nivel endotelial [41].

În ceea ce privește DNP – peptidul natriuretic de tip D – identificat pentru prima oară în 1992, de către Schweitz și colab., în veninul unei specii de șerpi (*Dendroaspis angusticeps*) [36], prezența sa ca moleculă distinctă și biologic activă la om este încă controversată [22, 34].

Concluzii

Descoperirea peptidelor natriuretice, ca și a altor sisteme neurohormonale implicate în reglarea neuroendocrină cardiovasculară au marcat apariția unui nou domeniu integrat de cercetare fundamentală și clinică – endocrinologia cardiovasculară.

Identificarea peptidelor natriuretice a revoluționat însă fiziologia și patologia cardiovasculară modernă, având în vedere că peptidul natriuretic atrial (ANP) a fost primul hormon identificat la nivel miocardic,

reprezentând prima dovadă a funcției endocrine a inimii. Această descoperire a inaugurat o nouă eră atât în cercetarea fundamentală cât și în cea clinică, fiind urmată de identificarea relativ rapidă și a altor membri ai familiei peptidelor natriuretice, dar și a altor peptide miocardice (sistemul renină-angiotensină-aldosteron-vasopresină), considerate esențiale pentru actuala concepție și înțelegere a reglării neuroendocrine a sistemului cardiovascular. Toate acestea au oferit noi oportunități în diagnosticul, prognosticul, managementul, *screening*-ul unor afecțiunilor cardiovasculare, deschizând, în același timp, perspectiva unor noi și provocatoare opțiuni terapeutice.

BIBLIOGRAFIE

1. Antunes-Rodrigues J, de Castro M, Elias LLK, Valença MM, McCann SM. – Neuroendocrine control of body fluid metabolism. *Physiol Rev.* 2004; 84: 169-208.
2. Bloch KD, Seidman JG, Naftilan JD, Fallon JT, Seidman CE. Neonatal atria and ventricle secrete atrial natriuretic factor via tissue-specific secretory pathways. *Cell.* 1986; 47: 695–702.
3. Chen HH, Burnett JC. - The natriuretic peptides in the pathophysiology of congestive heart failure. *Curr Cardiol Rep.* 2000; 3: 198-205.
4. Clerico A, Iervasi G, Pilo A. - Turnover studies on cardiac natriuretic peptides: methodological, pathophysiological and therapeutic considerations. *Curr Drug Metab.* 2000; 1: 85-105.
5. Currie MG, Geller DM, Cole BR et al. - Bioactive cardiac substances: potent vasorelaxant activity in mammalian atria. *Science.* 1983; 221: 71–73.
6. Dagnino L, Drouin J, Nemer M. - Differential expression of natriuretic peptide genes in cardiac and extracardiac tissues. *Mol Endocrinol.* 1991; 5: 1292-1300.
7. Davis JO, Freeman RH. - Mechanism regulating renin release. *Physiol Rev.* 1976; 56: 1–56.
8. de Bold AJ, Borenstein HB, Veress AT, Sonnenberg H. - A rapid and potent natriuretic response to intravenous injection of atrial myocardial extracts in rats. *Life Sci.* 1981; 28: 89-94.
9. de Bold AJ. - Heart atria granularity effects of

- changes in water-electrolyte balance. *Proc Soc Exp Biol Med.* 1979; 161: 508–511.
10. de Wardener HE, Clarkson EL. - The Kidney: Physiology and pathophysiology. New York: Raven; 1985, p. 1013.
11. Epstein FH (ed), Levin ER, Gardner DG, Samson WK. - Natriuretic peptides. *N Engl J Med.* 1998; 339: 321–328.
12. Flynn TG, de Bold ML, de Bold AJ. - The amino acid sequence of an atrial peptide with potent diuretic and natriuretic properties. *Biochem Biophys Res Commun.* 1983; 117(3): 859–865.
13. Fry BG, Wickramaratana JC, Lemme S, Beuve A, Garbers D, Hodgson WC, Alewood P. - Novel natriuretic peptides from the venom of the inland taipan (*Oxyuranus microlepidotus*): isolation, chemical and biological characterisation. *Biochem Biophys Res Commun.* 2005; 327: 1011–1015.
14. Gardner DG, Deschepper CF, Ganong WF, Hane S, Fiddes J, Baxter JD, Lewicki J. - Extraatrial expression of the gene for atrial natriuretic factor. *Proc Natl Acad Sci USA.* 1986; 83: 6697–6701.
15. Genest J. - The atrial natriuretic factor. *Br Heart J.* 1986; 56: 302–316.
16. Greenberg BD, Bencen GH, Seilhamer JJ, Lewicki JA, Fiddes JC. - Nucleotide sequence of the gene encoding human atrial natriuretic factor precursor. *Nature.* 1984; 312: 656–658.
17. Henry JP, Gauer OH, and Reeves JL. - Evidence of the atrial location of receptors influencing urine flow. *Circ Res.* 1956; 4: 85–90.
18. Huet M, Benchimol S, Berlinguet JC, Castonguay Y, Cantin M. - Cytochimie ultrastructurale des cardiocytes de l'oreillette humaine. IV. Digestion des granules spécifiques par les protéases. *J Microsc.* 1974; 21: 147–158.
19. Huet M, Cantin M. - Ultrastructural cytochemistry of atrial muscle cells. II. Characterization of the protein content of specific granules. *Lab Invest.* 1974; 30: 525–532.
20. Jamieson JD, Palade GE. Specific granules in atrial muscle cell. *J Cell Biol.* 1964; 23: 151–62.
21. Kangawa K, Matsuo H. - Purification and complete amino acid sequence of a human atrial natriuretic peptide (a-hANP). *Biochem Biophys Res Commun.* 1984; 118: 131–139.
22. Kirkwood FA Jr., Vandana SM, Gheorghiade M. - B-type natriuretic peptide: From bench to bedside. *Am Heart J.* 2003; 145: S34–S46.
23. Kisch B. - Electron microscopy of the atrium of the heart. I. Guinea pig. *Exp Med Surg.* 1956; 14: 99–112.
24. Knepper MA. - Milestones in nephrology. *J Am Soc Nephrol.* 2001; 13: 403–409.
25. Kone BC. - Molecular biology of natriuretic peptides and nitric oxide synthases. *Cardiovasc Res.* 2001; 51: 429–441.
26. Maack T, Suzuki M, Almeida FA, et al. - Physiological role of silent receptors of atrial natriuretic factor. *Science.* 1987; 238: 675–678.
27. Mäkilä K. - Placental insufficiency and fetal heart: Doppler ultrasonographic and biochemical markers of fetal cardiac dysfunction. Chapter 2.5. Atrial natriuretic peptide. 2002. (Accesat în 10 noiembrie, 2005, la <URL:[http:// hercules. oulu.fi/ isbn9514267370/](http://hercules.oulu.fi/isbn9514267370/)>).
28. Marie JP, Guillemot H, Hatt PY. - Le degré de granulation des cardiocytes auriculaires. Etude planimétrique au cours de différents apports d'eau et de sodium chez le rat. *Pathol Biol (Paris).* 1976; 24: 549–554.
29. Nakao K, Ogawa Y, Suga S-I, Imura H. - Molecular biology and biochemistry of the natriuretic peptide system. I: Natriuretic peptides. *J Hypertens.* 1992; 10: 907–912.
30. Nakayama K, Ohkubo H, Hirose T, Inayama S, Nakanishi S. - mRNA sequence for human cardiodilatin-atrial natriuretic factor precursor and regulation of precursor mRNA in rat atria. *Nature.* 1984; 310: 699–701.
31. Ogawa Y, Nakao K, Mukoyama M, Hosoda K, Shirakami G, Arai H, Saito Y, Suga S, Jougasaki M, Imura H. - Natriuretic peptides as cardiac hormones in normotensive and spontaneously hypertensive rats. The ventricle is a major site of synthesis and secretion of brain natriuretic peptide. *Circ Res.* 1991; 69: 491–500.
32. Pascu AM. - Fiziologia și fiziopatologia peptidelor natriuretice. În: Peptidul natriuretic de tip B - BNP. Fiziologie. Fiziopatologie. Aplicații clinice în patologia cardiovasculară. Brașov: Editura Universității Transilvania Brașov; 2008, p. 1.

33. Pikkarainen S. - Signal transduction mechanisms and nuclear effectors in gene expression during hypertrophy of cardiac myocytes. Chapter 2.4. Natriuretic peptides. 2003. (Accesat în 15 noiembrie, 2005, la <URL:<http://hercules.oulu.fi/isbn9514270371/>>).
34. Richards M, Lainchbury JG, Nicholls MG. - Dendroaspis natriuretic peptide: endogenous or dubious? *Lancet*. 2002; 359: 5-6.
35. Rose RA, Giles W. - Natriuretic peptide C receptor signaling in the heart and vasculature. *J Physiol*. 2008; 586: 353-366.
36. Schweitz H, Vigne P, Moinier D, Frelin C, Lazdunski M. - A new member of the natriuretic peptide family is present in the venom of the green mamba (*Dendroaspis angusticeps*). *J Biol Chem*. 1992; 267: 13928-13932.
37. Sillberbach M, Roberts C. - Natriuretic peptide signaling: molecular and cellular pathways to growths regulation. *Cell Signal*. 2001; 13: 221-231.
38. Silver MA, Maisel A, Yancy CW, et al. - BNP Consensus Panel 2004: A Clinical Approach for the Diagnostic, Prognostic, Screening, Treatment Monitoring, and Therapeutic Roles of Natriuretic Peptides in Cardiovascular Diseases. *CHF*. 2004; 10(5 suppl 3): 1-30.
39. Sudoh T, Kangawa K, Minamino N, et al. - A new natriuretic peptide in porcine brain. *Nature*. 1988; 332: 78-81.
40. Sudoh T, Minamino N, Kangawa K, Matsuo H. - C-type natriuretic peptide (CNP): a new member of natriuretic peptide family identified in porcine brain. *Biochem Biophys Res Commun*. 1990; 168: 863-870.
41. Suga S, Nakao K, Itoh H, Komatsu Y, Ogawa Y, Hama N, Imura H. - Endothelial production of C-type natriuretic peptide and its marked augmentation by transforming growth factor-beta. Possible existence of "vascular natriuretic peptide system". *J Clin Invest*. 1992; 90(3): 1145-1149.
42. Suo M. - The role and mechanisms of angiotensin II in the regulating the natriuretic peptide gene expressin in response to cardiac overload. Chapter 2.4. Natriuretic peptides. 2002. (Accesat în 10 noiembrie, 2005, la <URL:<http://hercules.oulu.fi/isbn9514266>>).
43. Suzuki T, Yamazaki T, Yazaki Y. - The role of the natriuretic peptides in the cardiovascular system. *Cardiovasc Res*. 2001; 51: 489-494.
44. Tervonen V. - Salmon cardiac peptide (sCP): a new model for natriuretic peptide biology. Chapter 2. Review of the literature. 2001. (Accesat în 05 noiembrie, 2005, la <URL:<http://hercules.oulu.fi/issn03553221/>>).
45. Wei YF, Rodi CP, Day ML, Wiegand RC, Needleman LD, Cole BR, Needleman P. - Developmental changes in the rat atriopeptin hormonal system. *J Clin Invest*. 1987; 79:1 325-1329.
46. Yamanaka M, Greenberg B, Johnson L, Seilhamer J, Brewer M, Friedemann T, Miller J, Atlas S, Laragh J, Lewicki J. - Cloning and sequence analysis of the cDNA for the rat atrial natriuretic factor precursor. *Nature*. 1984; 309: 719-722.
47. Zeller R, Bloch KD, Williams BS, Arceci RJ, Seidman CE. - Localized expression of the atrial natriuretic factor gene during cardiac embryogenesis. *Genes Dev*. 1987; 1: 693-698.