

## ATRIAL NATRIÜRETİK PEPTİDLERİN ETKİ MEKANİZMASI (Mechanisms of Action of Atrial Natriuretic Peptides)

Dr. Fatma ŞAHİN \*, Dr. Neyhan ERGENE \*\*

\* M.Ü. Atatürk Eğitim Fak. Biyoloji Anabilim Dalı, \*\* S.Ü.T.F. Fiziyojji Anabilim Dalı

Atrial Natriüretik Peptidlerin (ANP) etki mekanizması üzerindeki araştırmalar De Bold ve grubu (1) tarafından onun diüretik ve natriüretik özelliklerinin bulunmasından sonra başlamıştır. Daha sonra yapılan çalışmalar, bu hormonun adrenokortikal fonksiyonların inhibisyonundaki rolü, vazodilatör etkisi, diğer yapılarda neden olduğu etkiler ve bu etkilere aracılık eden mekanizmalar üzerinde yoğunlaşmıştır (2). ANP'nin saflaştırılmasından önce atrial ekstraktın sıçanlara intravenöz enjeksiyonu sonucunda plazma ve idrarda cGMP seviyesinin arttığı, cAMP seviyesinin ise değişmeden kaldığı gözlenmiştir (3). Önceleri ANP'nin biyokimyasal yapısı ve etkisi bilinmediğinden atrial ekstrakt ile guanilat siklaz aktivasyonu arasındaki ilişki gözden kaçmıştır. ANP'nin biyokimyasal yapısı belirlendikten sonra biyolojik aktivite için temel olan önemli bir disülfid bağı içerdiği öğrenilmiştir (2, 4). ANP'nin belirtilen bu özelliğinin belirlenmesinden sonra çeşitli dokularda guanilat siklazı aktive ettiği anlaşılmıştır (5). Çeşitli dokularda cGMP'nin ANP için ikinci haberci olarak rol oynadığı da belirtilmiştir (6).

### ANP ile Guanilat Siklaz Aktivasyonu Arasındaki İlişki

Guanilat siklazın aktivasyonu ile ilgili mekanizmalar halâ tam olarak bilinmemektedir. Manganez, guanilat siklazın metal kofaktörü olmamasına rağmen bir çok araştırmacı enzim substratı olarak GTPMn kullanmaktadır. Çünkü guanilat siklaz aktivitesi diğer metal kofaktörlerine göre manganezle daha kolay tayin edilebilmektedir (2, 7).

ANP'nin neden olduğu guanilat siklaz aktivasyonu için yüksek konsantrasyonda GTPMn gerekmektedir (2, 8). İlk defa deniz kestanesinde saflaştırılan guanilat siklaz, %30 glikosil artıkları içeren bir glikoproteindir (9, 10). ANP adrenal korteks, distal tübüller, endotel hücreler, vasküler düz kas ve çeşitli hücre tiplerinde guanilat siklazı aktive etmektedir (11). Buna karşılık Waldman (12) izole edilmiş ince

barsak hücrelerinde bu enzim aktivitesi'nin E.Coli'nin ısıya dayanıklı toksinlerinden dolayı gözlenemediğini belirtmiştir.

### Siklik GMP'nin Etki Mekanizması ve Protein Fosforilasyonu

Siklik GMP guanilat siklaz sisteminin etkisi en az iki izoenzim tarafından katalize edilmektedir. Sito-plazmik ve membrana bağlı izoenzimlerin kinetik, fiziko kimyasal ve antijenik özellikleri farklıdır. Çözünen ve çözülmeyen enzimlerin düzeyi farklı dokularda ve türlerde değişebilmektedir. Vasküler düz kas her iki izoenzime de sahiptir (11, 12). cGMP hedef dokularda cGMP'ye bağlı protein kinazı aktive eder. Aktive olmuş protein kinaz proteinlerin fosforilasyonunu teşvik eder. Vasküler düz kas hücrelerinde çeşitli proteinler cGMP tarafından fosforile edilir (13). Düz kas proteinlerinin fosforilasyonu vazodilatör etkili nitratlar ya da cGMP analogları ile azaltılmaktadır (3, 4). Rapoport (14) miyosinin düşük moleküler ağırlıklı kuyruk kısmının defosforilize edildiğini ve düz kasın gevşediğini belirtmiştir. cGMP ve kalsiyum birbiriyle ilişki halindedir (15). cGMP'ye bağlı protein kinaz, proteinlerin spesifik fosforilasyonunu artırarak, kardiak liflerin kalsiyuma hassasiyetini azaltır. Aynı zamanda düz kasta kalsiyum mobilizasyonu üzerine inhibitör etki gösterir (16, 17). cGMP yalnızca miyosinin düşük moleküler ağırlıklı kuyruk kısmını etkileyerek direk olarak vazodilatasyon oluşturmaz, protein kinaz aracılığı ile kalsiyum mobilizasyonunu da inhibe eder (18).

### Siklik GMP'nin Direkt Etkisi

Siklik GMP sadece protein fosforilasyonunda rol oynamaz. Protein kinaz aktivasyonundan ziyade, cGMP döngüsü hedef dokularda cGMP'a bağlı etki de önemli bir belirleyici olabilir. cGMP proteinlerin fosforilasyonu olmaksızın da direkt olarak etki gösterebilir. Örneğin, gözün retinasında bulunan basillerin dış membranında cGMP proteinlerin fosforilasyonu olmaksızın ışığa elektriksel tepkiyi düzenler

(19, 20). Diğer dokularda da cGMP'nin buna benzer bir kanalın geçirgenliğini direkt olarak düzenlediği belirtilmiştir (2, 3, 11).

#### ANP'ye Bağlı Etkide cGMP'in Rolü

ANP ve cGMP düzeyi insanda sıvı volümü artmasından sonra yükselir. İdrarda cGMP'nin tayini çeşitli durumlarda ANP için bir gösterge olarak hizmet edebilir (21). ANP en fazla 5 dakikalık bir yarılanma süresine, buna karşılık cGMP ise 10-20 dakikalık bir yarılanma süresine sahiptir. Proteolizisten etkilenmez. Kan EDTA içeren tüpler içine alındığında cGMP birkaç saat bozulmadan kalır. Buna karşılık ANP tayini hemen yapılmalıdır. ANP enjeksiyonundan sonra en yüksek plazma cGMP seviyeleri 6 dakika sonra, idrardaki cGMP seviyeleri ise 30 dakika sonra gözlenir (3, 5, 6).

#### ANP ile Adenilat Siklazın İnhibisyonu

ANP, çeşitli dokularda adenilat siklaz aktivitesini inhibe eder. Bazı damarlarda (örneğin koroner arterler) görülen vasokonstriksiyon adenilat siklazın inhibisyonuna bağlıdır (15, 17). ANP birçok hücrede adenilat siklazı inhibe eder, guanilat siklazı ise aktive eder. Guanilat siklazın aktivasyonu cAMP veya cGMP vasıtasıyla olur. Ancak klinik çalışmalarda cAMP, ANP'nin etkilerini gözlemek amacıyla kullanılmaz. Çünkü cAMP seviyesi ANP seviyesinin artmasına rağmen değişmeden kalabilir (2, 10, 18).

#### Kalsiyum Mobilizasyonunun İnhibisyonu

ANP vasküler düz kaslı yapılarda sarkoplazmik retikulumdan kalsiyum salıverilmesini inhibe eder (22). Bu etki ANP'nin diğer etkilerinden bağımsız olarak gerçekleşir (23).

#### Hedef Dokularda ANP'nin Etki Mekanizması

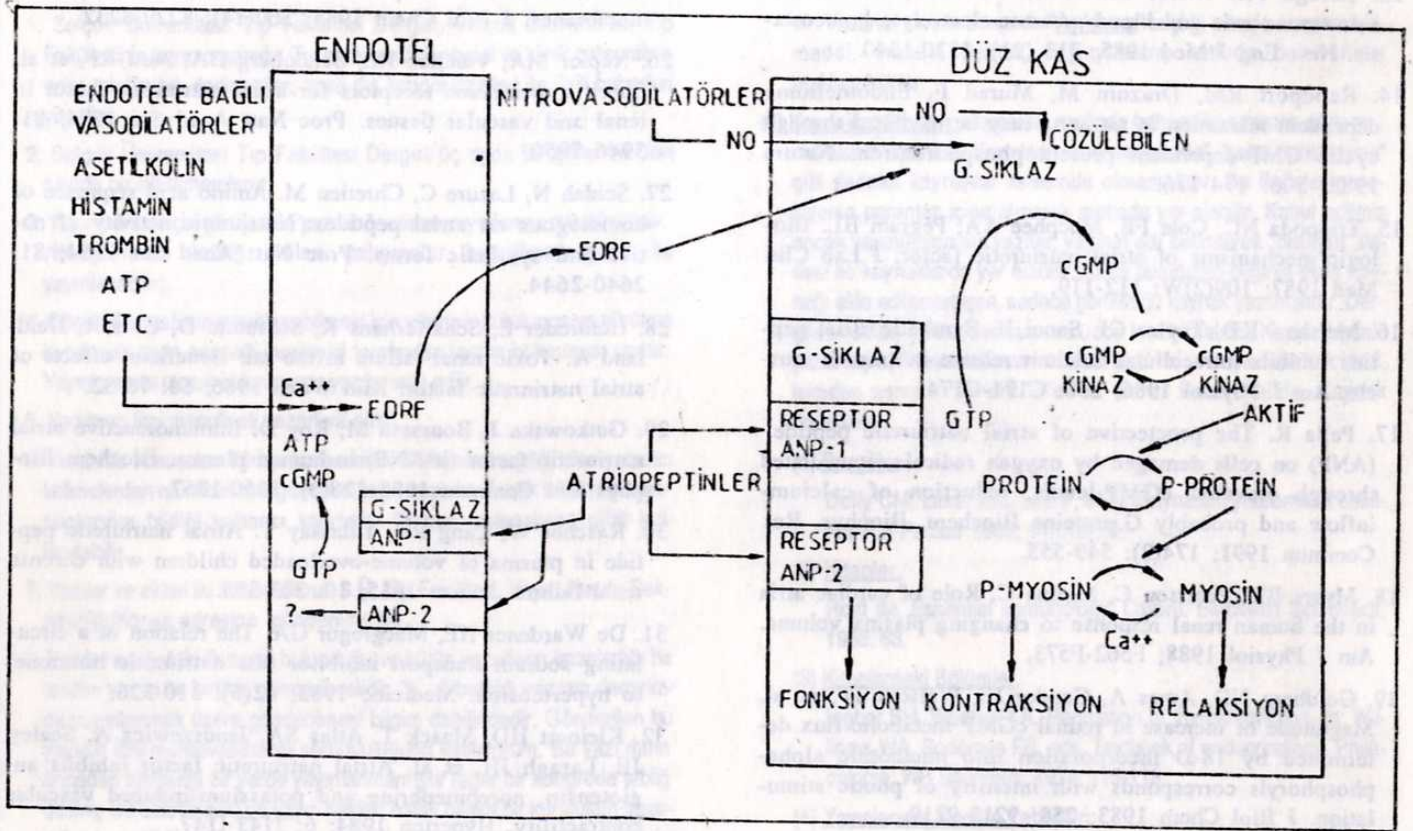
ANP gomerulusların su ve sodyuma geçirgenliğini artırır (18, 24, 25, 26). Glomerulus ve distal tubülleri etkilediği halde, proksimal tubüllerde etki oluşturmaz (27, 28). Distal tubüller filtrattan sodyumun kontrollü olarak reabsorbe edildiği bölümdür. ANP bu aktiviteyi azaltır (29, 30, 31). Akut olarak plazma volümünün artması özellikle sol atrial basıncın yükselmesine ve sonuçta natriürezise neden olur (32, 33). Araştırmalar, plazma ve ekstrasellular sıvı volümünün refleks yolla düzenlenmesinde atriyumdaki düşük basınç baroreseptörlerinin yeri

olduğunu ortaya koymuştur. Sol atrial duvarda basınç yükselmesi ile sol atriumun gerilmesini takip eden idrar atılmasındaki artma, arginin vasopressin (ADH)'nin hipofizden salıverilmesinin baskılanması ile açıklanabilir (34).

ANP aynı zamanda renin angiotensin-aldosteron sisteminde de inhibitör bir etkiye sahiptir (35, 36). Bu sistemde en önemli faktör renin enzimidir. Renin adrenerejik reseptörler ya da juxtaglomerular yapıdaki PG (Prostoglandin) reseptörlerinin aktivasyonu sonucu juxtaglomerular hücreler tarafından kana verilir. Renin ve aldosteronun salgılanması besinlerle alınan sodyum içeriğinin değişmesine paralellik göstermektedir. Ayrıca böbreklerde arteriyel basıncın düşmesi de benzer şekilde renin salgılanmasına neden olur. Renin kan dolaşımına geçerek orada angiotensinojen üzerine etkiyerek angiotensin I oluşturur. Bu da dönüştürücü enzimle angiotensin II haline çevrilir. Bu küçük peptid adrenal korteksten aldosteron salıverilmesine neden olur. Bu madde aynı zamanda vasküler düz kaslarda konstriktör bir etkiye de sahiptir. Angiotensin II negatif feedback bir etki ile kısmen juxtaglomerular hücrelerden renin, kısmen de adrenal bezden aldosteron salıverilmesini önler ve dolayısıyla böbrekten sodyum ve su geri emilimi inhibe edilmiş olur. Böbreklerden sodyum atılımını hızlandıran bir diğer faktör de ANP'dir. ANP renin, angiotensin ve aldosteron salıverilmesini engelleyerek sodyum geri emilimini, ADH'nin salıverilmesini engelleyerek de su geri emilimini inhibe eder. ANP bu etkisini guanilat siklazı baskılayarak yapar (2, 4, 15).

ANP'nin önemli bir özelliği de vasodilatör bir etkiye sahip olmasıdır. ANP, angiotensin, norepinefrin ya da potasyum ile önceden kasılmış olan düz kaslı yapıları gevşetir (1, 11, 15, 37). ANP dışında, vasküler yatağın gevşemesine katkıda bulunan diğer bazı endojen maddeler de vardır. Bunlardan üzerinde en fazla çalışılan EDRF (Endotel kaynaklı gevşetici faktör)dir. Endotelde sentezlenen ve kimyasal yapısı henüz tam olarak bilinmeyen bu ajanın guanilat siklaz enziminin çözünebilen formlarını aktive ettiği sanılmaktadır. Benzer şekilde, ANP'de guanilat siklazın izoenzim formunu aktive ederek cGMP sentezini ve cGMP'ye bağlı protein kinaz aktivasyonunu artırarak düz kası gevşetir (Şekil 1) (2).

YAYIN KURALLARI



Şekil 1: cGMP sentezinde vasodilatörlerin etki mekanizması.

KAYNAKLAR

1. De Bold AJ, Borenstein HB, Veress AT, Sonnenberg HA. Rapid and potent natriuretic response to intravenous injection of atrial myocardial extract in rats. *Life Sci* 1981; 28: 89-94.
2. Gerzer R, Witzgall H, Tremblay J, Gutkowska J, Hamet P. Rapid increase in plasma and urinary cyclic GMP after bolus injection of atrial natriuretic factor in man. *Klin Woch* 1987; 65: 109-114.
3. Hamet P, Tremblay W, Pang SC, Garcia R, Thibault G, Gutkowska J, Cantin M, Genest J. Effect of native and synthetic atrial natriuretic factor on cyclic GMP. *Biochem. Biophys Res Commun* 1984; 123 (2): 515-527.
4. Gerzer R, Hein JM, Schütte B, Weil J. Cellular mechanisms of action of atrial natriuretic factor. *Klin Woch* 1987; 65: 109-114.
5. Broadus AE, Kaminsky NI, Hardman JG, Sutherland EW, Liddle GW. Kinetic parameters and renal clearance of plasma adenosine 3'-5' monophosphate and guanosine 3'-5' monophosphate. *J Clin Invest* 1970; 49: 2222-2236.
6. Murad F. Cyclic guanosine monophosphate as a mediator of vasodilation. *J Clin Invest* 1986; 78: 1-5.
7. Atlas SA, Kleinert HD, Camargo MJ, Lewicks JA, Johnson LK, Maack T. Purification, sequencing and synthesis of natriuretic and vasoactive rat atrial peptide. *Nature* 1984; 309: 217-219.
8. Eskay R, Grojec Z, Haass M, Dave JR, Zamir N. Circulating atrial natriuretic peptides in conscious rats: Regulation of release by multiple factor. *Sci* 1986; 232: 636-639.
9. Firth JD, Raine AEG, Ledingham JGG. Low concentration of ANP cause pressure-dependent natriuresis in the isolated kidney. *Am J Physiol* 1988; 254: F391-F396.
10. Crabos M, Ausiello DA, Hauptert CT, Cantiella HF. Atrial natriuretic peptide regulates release of Na<sup>+</sup>-K<sup>+</sup>ATP ase inhibitor from rat brain. *Am J Physiol* 1988; 254: F912-F917.
11. Hamet P, Tremblay J, Thibault G, Garcia R, Cantin M, Genest J. Effect of atrial natriuretic factor on metabolism of cGMP. *Endocrin* 1983; 112: 289.
12. Kramer HJ, Lichardus B. Atrial natriuretic hormones- Thirty years after the discovery of atrial volume receptors. *Klin Wochen* 1986; 64: 719-731.

13. Laragh JH. Atrial natriuretic hormone, The renin-aldosterone axis and blood pressure-electrolyte homeostasis. *New Eng J Med* 1985; 313 (21): 1330-1340.
14. Rapoport RM, Draznin M, Murad F. Endothelium-dependent relaxation in rat aorta may be mediated through cyclic GMP-dependent protein phosphorylation. *Nature* 1983; 306: 174-176.
15. Trippoda NC, Cole FE, Macphee AA, Pegram BL. Biologic mechanisms of atrial natriuretic factor. *J Lab Clin Med* 1987; 109(2)W: 112-119.
16. Meisneri KD, Taylor CJ, Sanei H. Synthetic atrial peptide inhibits intracellular calcium release in smooth muscle. *Am J Physiol* 1986; 250: C171-C174.
17. Pella R. The protective of atrial natriuretic peptide (ANP) on cells damaged by oxygen radicals is mediated through elevated cGMP-levels, reduction of calcium-inflow and probably G-proteins. *Biochem. Biophys. Res Commun* 1991; 174(2): 549-555.
18. Myers BD, Peterson C, Molina C. Role of cardiac atria in the human renal response to changing plasma volume. *Am J Physiol* 1988; F562-F573.
19. Goldberg ND, Ames A, Gander JE, Walseth TF, et al. Magnitude of increase in retinal cGMP metabolic flux determined by 18-D incorporation into nucleotide alpha-phosphoryls corresponds with intensity of photic stimulation. *J Biol Chem* 1983; 258: 9213-9219.
20. Hayners, JW, Kay AR, Yau KW. Single cyclic GMP-activated channel activity in excised patches of rod outer segment membrane. *Nature* 1986; 321:66-70.
21. Zimmerman AC, Baylor DA. Cyclic GMP-sensitive conductance of retinal rods consists of aqueous pores. *Nature* 1986; 321:70-72.
22. Sagnella GA, Macgregor GA. Cardiac peptides and the control of sodium excretion. *Nature* 1984; 309: 666-667.
23. Veress AT, Milojevic S, Flynn TG, Sonnenberg H, et al. In vitro mediated release of prohormone. *Am J Physiol* 1988; 254: R809-814.
24. Cogan MC. Atrial natriuretic factor. *W J Med* 1986; 144: 591-595.
25. Yip CC, Laing LP, Flynn TG. Photoaffinity of atrial natriuretic factor receptors of rat kidney cortex plasma membranes. *J Biol Chem* 1985; 260(14): 8229-8232.
26. Napier MA, Vandlen RL, Schönberg GA, Nutt RF, et al. Specific membrane receptors for atrial natriuretic factor in renal and vascular tissues. *Proc Natl Acad Sci* 1984; 81: 5946-5950.
27. Scidah N, Lazure C, Chretien M. Amino acid sequence of homologous rat atrial peptides: Natriuretic activity of native and synthetic forms. *Proc Natl Acad Sci* 1984; 81: 2640-2644.
28. Heidreder E, Schafferhans K, Schramm D, Götz R, Heidland A. Toxic renal failure in the rat: Beneficial effects of atrial natriuretic factor. *Klin Woch* 1986; 64: 78-82.
29. Gutkowska J, Bourassa M, Roy D. Immunoreactive atrial natriuretic factor (ir-ANP) in human plasma. *Biochem Biophys Res Commun* 1985 128(3): 1350-1357.
30. Rascher W, Lang RE, Tulassay T. Atrial natriuretic peptide in plasma of volume-overloaded children with chronic renal failure. *Lancet* 1985; 10: 303-305.
31. De Wardener HE, Macgregor GA. The relation of a circulating sodium transport inhibitor (the natriuretic hormone) to hypertension. *Medicine* 1983; 62(5): 310-326.
32. Kleinert HD, Maack T, Atlas SA, Januszewicz A, Sealey JE, Laragh JH, et al. Atrial natriuretic factor inhibits angiotensin, norepinephrine and potassium-induced vascular contractility. *Hyperten* 1984; 6: I143-I147.
33. Lang RE, Thöllen H, Ganten D, Luft FC, Ruskoaho H, Unger TH, et al. Atrial natriuretic factor-a circulating hormone stimulated by volume loading. *Nature* 1985; 314: 264-266.
34. Kuchel O, Gutkowska J, Buv NT, Cantin M, Genest J. Responses of plasma immunoreactive atrial natriuretic factor, aldosterone and urinary dopamine to salt loading in a patient with severe idiopathic edema. *Horm Metabol Res* 1987; 19: 45-46.
35. Deray G, Branch RA, Herzer WA, Ohnishi AJ, Jackson EK. Effects of atrial natriuretic factor on hormone-induced renin release hypertension. *Lancet* 1987; 26: 1450-1454.
36. Maack T, Camargo MJF, Kleinert IID, Laragh JH, Vaughan ED, Atlas SA, et al. Atrial natriuretic factor: Structure and functional properties. *Kidney* 1985; 27: 607-615.