

Navorsings- en oorsigartikels

Sekresiemeganisme van atriale natriuretiese peptied (ANP)

J.J. Theron*, H. Bosman, R. de Winter en C.N. Henning
Departement Fisiologie, Universiteit van Pretoria, Pretoria 0002

Ontvang 29 Januarie 1993; aanvaar 8 April 1993

UITTREKSEL

Meganiese rekking van atriale spierweefsel in vitro lei tot die beweging van ANP-granules vanaf sentrale perinukleêre areas na perifere dele van die sarkoplasma by die sarkolemma. Hierdie sentrifugale beweging is geassosieer met maksimale sekresie van ANP in die suspensiemedium, sonder morfologiese bewyse van eksositose. Aangesien die toediening van vinblastien die verplasing van granules en ANP-sekresie onderdruk, is mikrotubuli waarskynlik betrokke by intrasellulêre beweging van ANP-granules.

ABSTRACT

Secretory mechanism of atrial natriuretic peptide (ANP)

Mechanical stretch of atrial muscle in vitro induces movement of ANP granules from central perinuclear areas to the periphery of the sarcoplasm at the sarcolemma. This centrifugal movement is associated with maximal secretion of ANP into the suspension medium, without morphological evidence of exocytosis. Since the addition of vinblastine suppresses the movement of granules and ANP secretion, microtubuli are probably involved in the intracellular movement of ANP granules.

INLEIDING

Alhoewel kennis oor die sintese, beheer en funksies van atriale natriuretiese peptied (ANP) en verwante peptiede reeds redelik volledig is,¹ bestaan daar nog onduidelikheid oor die meganisme van sekresie van die spesifieke, 28-aminosuur ANP wat in atriumspierselle gevind word. Dit word egter algemeen aanvaar dat meganiese uitrekking van atriumspier, byvoorbeeld deur 'n groter bloedvolume,² 'n belangrike prikkel vir sekresie van ANP is. Die meganisme waardeur uitrekking van atriumspier vrystelling van ANP deur atriale spierselle induseer, is egter nog onduidelik. Die direkte effek van atriumrekking op die ultrastruktuur en sekresievlakke van ANP is gevolglik ondersoek.

MATERIAAL EN METODEDES

Strokies atriumspier van volwasse mannetjierotte (n = 10) is in 'n superfusie-apparaat³ gemonteer met die spierweefsel in 'n Krebs-Henseleit-medium. Spiermonsters vir elektronmikroskopie (EM)⁴ en 1 ml suspensiemedium vir bepaling van rot-ANP⁵ (Amersham α ANP¹²⁵ I-radioreseptor-essai) is voor rekking (kontrole) en na maksimale rekking (1 gram vir 30 minute) geneem. Morfometriese metodes⁶ om die lokalisasie van spesifieke granules in atriumspierselle te evalueer, is op die kontrole en gerekte spierweefsel toegepas; EM-foto's met 'n finale vergroting van 9000 is gebruik. Met behulp van 'n rooster is perifere granules (ongeveer 1 μ m onder die sarkolemma) en sentrale granules (ongeveer 2 μ m om die kern), asook die totale getal granules in die sitoplasma getel. P-waardes is met behulp van Student t-toets bereken.

Sekresie deur middel van eksositose word deur die antimitotiese alkaloid, vinblastien, wat depolimerisasie

van mikrotubuli bevorder, onderdruk.⁷ In 'n verdere reeks eksperimente met 10 volwasse mannetjierotte, is vinblastien (1 mikromol) dus by die suspensiemedium van atriale spierweefsel gevoeg. Elektronmikroskopie en bepaling van ANP-vlakke in die medium is weereens uitgevoer.

RESULTATE

Die opvallendste morfologiese effek van uitrekking van atriumspierselle was 'n duidelike verskuiwing van ANP-granules vanaf hul oorwegend sentrale Golgi-geassosieerde perinukleêre ligging in kontrole, ongerekte spier

TABEL 1

Resultate van morfometriese analise⁶ van kontrole, niegerekte en eksperimentele gerekte atriumspierselle (sien teks)

	Getal miosiete	Totale getal granules in sitoplasma Gem. \pm SA	Verhouding perifere/sentrale granules
Kontrole	36	0.104 \pm 0.021	0.72
(nie gerek nie)	64	0.257 \pm 0.036	0.44
	83	0.219 \pm 0.032	0.59
	95	0.285 \pm 0.030	0.59
	42	0.226 \pm 0.031	0.60
GEM.	64	0.218 Φ	0.59*
Eksperiment.	39	0.185 \pm 0.023	0.77
(Gerek)	85	0.256 \pm 0.018	1.64
	51	0.134 \pm 0.012	1.86
	65	0.341 \pm 0.030	1.46
	44	0.267 \pm 0.024	1.72
GEM	57	0.235 Φ	1.49*
		Φ P = 0.5126	*P = 0.0122

SA: Standaardafwyking

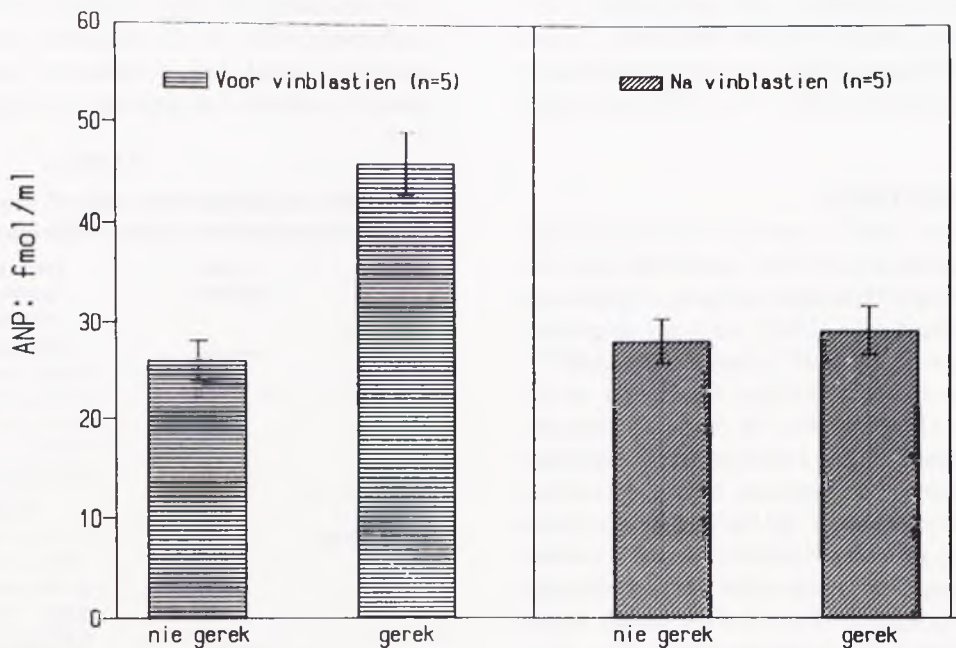
(fig. 1A) na perifere areas van die sarkoplasma net onder die sarkolemma in gerekte preparate (fig. 1B). Morfometriese metodes het die verskuiwing van granules bevestig. Volgens tabel 1 het rekking van atriumspier nie gelei tot verandering in die totale getal granules per miosiet nie, maar was daar wel 'n noemenswaardige ($P = 0,0122$) aanpassing in die verhouding van perifere- tot sentraal geleë granules vanaf 0,59 in die "rustende" toestand tot 1,49 na rekking. Geen ander kwalitatiewe morfologiese veranderinge is waargeneem nie. Dit is egter treffend dat, alhoewel rekking van atriumspier ANP-granules dikwels in direkte kontak met die sarkolemma gebring het, geen

morfologiese bewyse van eksositose van die granules (bv. omegafigure) gevind is nie.

Soos blyk uit fig. 2 gaan hierdie verskuiwing van spesifieke atriumgranules gepaard met maksimale sekresievlakke van ANP vanaf 26 ± 4 fmol/ml in die suspensiemedium van kontrole ongerekte spier, tot 46 ± 6 fmol/ml na rekking. Byvoeging van vinblastien by die medium onderdruk ANP-vrystelling feitlik volledig (kontrole: 29 ± 4 fmol/ml; na rekking: 30 ± 5 fmol/ml) terwyl ANP-granules hulle "rustende" perinukleêre sentrale ligging behou (fig. 3).



FIGUUR 1: Lokalisasie van atriumgranules in kontrole, niegerekte (A) en eksperimentele gerekte (B) atriumspierselle. K: Kern; G: Golgi; AG: Atriumgranules. Fig. 1A: X9800, Fig. 1B: X12000.



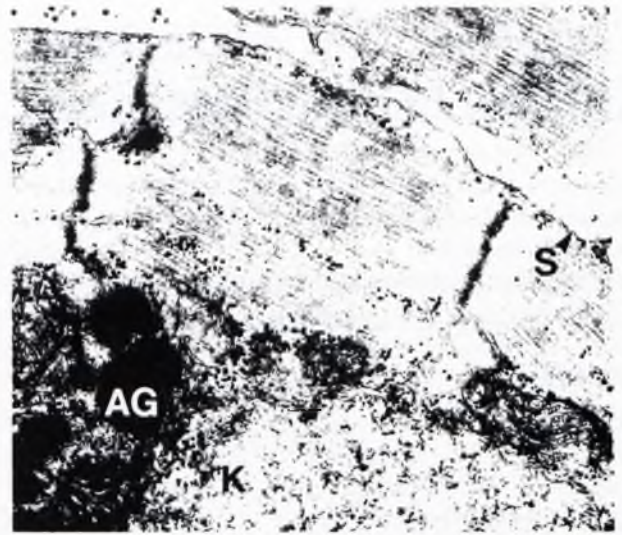
FIGUUR 2: ANP-vlakke (gem. \pm sa) in suspensiemedium van kontrole, niegerekte en eksperimentele gerekte (lg: 30 min.) atriumspierselle voor en na toediening van vinblastien.

BESPREKING

Die verplasing van ANP-granules deur meganiese uitrekking vanaf 'n oorwegend sentrale perinukleêre ligging in die rustende toestand na die perifere areas van die sarkoplasma by die sarkolemma wat deur die outeurs *in vitro* waargeneem is, is deur Navaratnam⁸ by intakte rotte na atriale uitrekking bewerkstellig deur eksperimentele verhoging van bloedvolume, beskryf. Agnoletti *et al.*⁶ beweer dat hierdie skielike "sentrifugale beweging" van granules een komponent van hulle ongewone sekretoriese meganisme is, maar in hulle eksperimente is ANP-vlakke nie bepaal nie. Die resultate met bepaling van ANP-vlakke in die suspensiemedium bewys dat meganiese rekking van atriumspier wel tot maksimale sekresievlakke van rANP-28 lei.

Daar word algemeen aanvaar dat mikrotubuli, afgesien van hulle rol in selmitose, ook by verskillende tipes van intrasellulêre bewegings van organelle, vesikels, ensovoorts betrokke is.⁷ Die feit dat toediening van vinblastien, 'n redelike spesifieke antimikrotubulêre alkaloid,⁷ ANP-sekresie onderdruk (fig. 2) en dat ANP-granules hul rustende sentrale ligging behou (fig. 3), ondersteun die suggestie⁸ dat mikrotubuli ook by die sentrifugale beweging van ANP-granules betrokke is.

Die resultate lewer ongelukkig geen bydrae tot die verklaring van die finale stappe in die sekresieproses van ANP-granules nadat hulle die sarkolemma bereik het nie. Soos voorheen,⁴ kon geen morfologiese bewyse van eksositose gevind word nie. Die onvermoë⁹ om die finale stadia in die proses van eksositose, naamlik



FIGUUR 3: Gerekte atriumspiersel na toediening van vinblastien: atriumgranules behou hulle "rustende", perinukleêre ligging. K: Kern; S: Sarkolemma; AG: Atriumgranules X7000.

versmelting van die granulemembraan met die sarkolemma morfologies te illustreer, mag moontlik te wyte wees aan die feit dat die versmelting besonder vinnig geskied.⁷ Verder het morfometriese analise⁶ bewys dat slegs enkele granules met die sarkolemma moet versmelt om gewenste bloedvlakke van ANP te handhaaf.

LITERATUURVERWYSINGS

1. Rozenzweig, A. & Seidman, C.E. (1991). Atrial natriuretic factor and related peptide hormones, *Ann. Rev. Biochem.*, 60, 229-255.
2. Ledsome, J., Wilson, N., Courneya, C.A. & Rankin, A.J. (1985). Release of atrial natriuretic peptide by atrial distension, *Can. J. Physiol. Pharmacol.*, 63, 739-742.
3. Agnoletti, G., Rodella, A., Ferrari, R. & Harris, P. (1987). Release of atrial natriuretic peptide-like immunoreactive material during stretching of the rat atrium *in vitro*, *J. Mol. Cell. Cardiol.*, 19, 217-220.
4. Theron, J.J., Biagio, R.P., Meyer, A.C. & Boekkooi, S. (1978). Ultrastructural observations on the maturation and secretion of granules in atrial myocardium, *J. Mol. Cell. Cardiol.*, 10, 567-572.
5. Theron, J.J. & De Winter, R. (1992). Secretory mechanism of atrial natriuretic peptide (ANP), Proc. SEMDSA-Kongres, p. 38.
6. Agnoletti, G., Ferrara, R., Slade, A.M., Severs, N.J. & Harris, P. (1989). Stretch-induced centrifugal movement of atrial specific granules, *J. Moll. Cell. Cardiol.*, 21, 235-239.
7. Alberts, B., Bray, D. & Lewis, J. (1989). *Molecular Biology of the Cell* (Garland Publishing, New York).
8. Navaratnam, V. (1987). *Heart muscle: ultrastructural studies* (Cambridge University Press, Cambridge).
9. Toshimori, H., Toshimori, K. & Minamino, N. (1990). Chicken atrial natriuretic peptide (chANP) and its secretion, *Cell Tiss. Res.*, 259, 293-298.