

CAPÍTULO 28

PERSPECTIVAS EMERGENTES SOBRE O PAPEL DOS HORMÔNIOS CARDÍACOS NA DOENÇA CARDIOVASCULAR

Antonio Peretti de Luna Freire Neto;
Camila Lara de la Barrera;
Gabiella Assink de Castro;
Guilherme Marcos Levy Lamella;
Hemerson Casado Gama;
Leonardo Giglio Dragone;
Rízia Kérem Gonçalves Martiniano;
Robson Amaro do Nascimento Xisto;
Rodney de Oliveira.

RESUMO

Os hormônios cardíacos desempenham um papel fundamental na regulação da função cardíaca e na manutenção do equilíbrio hemodinâmico. Dois dos hormônios mais importantes nesse contexto são o peptídeo natriurético atrial (ANP) e o peptídeo natriurético tipo B (BNP), que são secretados principalmente pelas células do músculo cardíaco em resposta ao estiramento das paredes do coração. O ANP e o BNP têm efeitos vasodilatadores, natriuréticos e diuréticos, o que ajuda a reduzir a pressão arterial e o volume sanguíneo, aliviando a carga de trabalho do coração. Eles também inibem a liberação de hormônios vasoconstritores, como a aldosterona e a angiotensina II, desempenhando assim um papel crucial na regulação do volume plasmático e na homeostase cardiovascular. Além disso, os níveis séricos de BNP têm sido amplamente utilizados como biomarcadores no diagnóstico e prognóstico de diversas condições cardíacas, como insuficiência cardíaca congestiva, hipertensão arterial pulmonar e síndrome coronariana aguda. A dosagem de BNP é particularmente útil na identificação precoce de disfunção cardíaca, permitindo uma intervenção terapêutica mais eficaz e melhorando os resultados clínicos. Por outro lado, a disfunção na regulação dos hormônios cardíacos pode contribuir para o desenvolvimento e progressão de doenças cardiovasculares. Por exemplo, a resistência à ação do ANP e do BNP tem sido associada a um pior prognóstico em pacientes com insuficiência cardíaca. Portanto, entender os mecanismos de ação e a regulação desses hormônios é essencial para o desenvolvimento de novas estratégias terapêuticas e biomarcadores para doenças cardíacas.

Palavras-chave: Hormônios cardíacos. Peptídeo natriurético atrial. Peptídeo natriurético tipo B. Regulação hormonal. Insuficiência cardíaca

1. CORAÇÃO ENDÓCRINO

O coração endócrino é uma descoberta relativamente nova. A partir da década de 1960, grânulos observados por microscopia eletrônica em miócitos cardíacos levaram à hipótese de um coração endócrino que poderia sintetizar hormônios peptídicos. A primeira evidência endócrina foi relatada em 1981, quando de Bold et al¹ relataram a existência de um fator natriurético atrial (FNA), capaz de estimular a natriurese renal. A partir dessa constatação, foram identificados a base molecular do fator peptídeo natriurético atrial (ANP) e dois peptídeos estruturalmente relacionados, o peptídeo natriurético tipo B (BNP) e o peptídeo natriurético tipo C (CNP)²⁻⁵.

Hormônios cardíacos, tanto o ANP quanto o BNP são expressos em cardiomiócitos, enquanto o CNP é, principalmente, um regulador local expresso nas células endoteliais, nos condrócitos e no sistema reprodutivo. Embora as primeiras pesquisas sobre bioquímica e biologia de peptídeos sugerissem uma simples maturação pós-tradução de ambos os propeptídeos, hoje sabe-se que os cardiomiócitos endócrinos são células endócrinas totalmente capazes, com um processamento elaborado e variável de peptídeos destinados à liberação. Além disso, o coração endócrino também produz outros peptídeos que podem desempenhar papéis até então não apreciados na regulação cardioendócrina de processos biológicos²⁻⁵.

Rapidamente, o coração endócrino atraiu a atenção clínica. A medição de ANP, BNP e seus precursores moleculares no plasma provou ser útil no diagnóstico de insuficiência cardíaca (IC)⁶⁻⁹. Sua utilidade diagnóstica tem sido estudada na maioria das doenças cardíacas e, embora contenha valor prognóstico para a maioria das doenças, permanece patogeneticamente central na IC em todas as suas formas. Conforme se buscava a medição dos peptídeos natriuréticos, o interesse pelo fenótipo endócrino do coração também aumentou. Uma descoberta importante foi a existência de uma enzima endoproteolítica de processamento cardíaco – a corina –, que parece crítica para a maturação de propeptídeos para os hormônios ativos. Os peptídeos cardíacos também são variavelmente O-glicosilados, que é uma etapa reguladora chave para a maturação em direção aos peptídeos bioativos^{10,11}.

1.1 GRÂNULOS

À princípio, os cardiomiócitos não parecem ser células endócrinas tradicionais. Seu fenótipo é dominado pela orientação muscular estriada, juntamente com suas conexões – junções comunicantes –, com outros cardiomiócitos. Além disso, os núcleos das células não estão localizados em uma extremidade das células, mas sim orientados em função do arranjo muscular de maneira poliploide. Com o desenvolvimento da microscopia

eletrônica, grânulos dentro dos cardiomiócitos atriais também puderam ser visualizados^{1,12}.

Sabe-se que os grânulos fazem parte de uma via regulada para a fusão com a membrana celular e liberação do seu conteúdo para o sangue. Como outros grânulos, os grânulos cardíacos contêm graninhas – uma classe de proteínas chaperonas envolvidas na formação de grânulos e na manutenção de um ambiente químico intragranular (ácido) específico. Duas dessas graninas nos grânulos dos cardiomiócitos são a cromogranina A e a cromogranina B, também importantes para a maturação normal e transporte dos peptídeos natriuréticos¹³⁻¹⁵. Outra granina é a proteína bifuncional peptidil-alfa-amidante monooxigenase (PAM), presente no coração de mamíferos e semelhante à granina e uma enzima catalítica para amidação de peptídeos^{16,17}. A remoção da PAM dos cardiomiócitos resulta na remoção de grânulos, o que ressalta seu papel fundamental na formação granular e na biologia. Para a função enzimática da proteína, no entanto, nenhum peptídeo amidado foi ainda identificado nos grânulos¹⁸⁻²⁰.

Conforme mencionado, os grânulos estão presentes nos cardiomiócitos atriais. Os miócitos ventriculares, por outro lado, não contêm grânulos, pelo menos não nos corações saudáveis^{21,22}. Porém, quando os miócitos ventriculares são submetidos a estresse, seu fenótipo muda para um fenótipo atrial e começa a conter grânulos²³. O conhecimento atual sobre grânulos nas células ventriculares ainda é limitado. Foram relatadas algumas sugestões para armazenamento de peptídeos em miócitos ventriculares normais onde o tecido ventricular, por exemplo, pode armazenar pró-formas de colecistocinina, que é um hormônio intestinal também expresso no coração de mamíferos^{24,25}.

1.2 TRADUÇÃO

Um evento chave na tradução do mRNA em propeptídeo é a remoção do peptídeo sinal. A enzima sinalase cliva um fragmento N-terminal da pré-proestrutura enquanto a tradução ocorre, e o peptídeo sinal é supostamente degradado. Considera-se que os peptídeos de sinal são fios-guia moleculares que garantem a tradução ribossômica na rede de Golgi. Para os peptídeos cardíacos, as pré-próestruturas são, portanto, inexistentes como estruturas independentes²⁶⁻²⁸.

Em contraste ao conceito de que os peptídeos sinal são degradados, os peptídeos sinal dos peptídeos natriuréticos são expressos e identificáveis. Fragmentos dos peptídeos sinalizadores também são liberados na circulação e podem ser quantificados no plasma. A forma como estes peptídeos deixam os cardiomiócitos ainda não foi esclarecida, mas dados sugerem que sua liberação pode ser rápida e preceder a liberação da apoptose celular e da lise da membrana. Como os peptídeos sinalizadores geralmente são hidrofóbicos, pode-se especular que eles sejam transportados por outro peptídeo ou proteína, possivelmente por uma granina²⁶⁻²⁸.

1.3 O-GLICOSILAÇÃO

Um dos primeiros eventos pós-tradução na maturação do propeptídeo é a O-glicosilação. Essa alteração complexa envolve a adição de uma porção à base de açúcar no átomo de oxigênio livre dos resíduos de serina e/ou treonina no propeptídeo. Embora se considerasse que a O-glicosilação era uma característica de proteínas maiores, agora sabe-se que os hormônios peptídicos também são glicosilados. Para os peptídeos natriuréticos cardíacos, especulou-se há muito tempo que as pró-estruturas foram modificadas, pois seu comportamento bioquímico, por exemplo, na eluição cromatográfica, indicava a presença de formas maiores do que a sequência primária indicada²⁹⁻³¹. A desglicosilação bioquímica do proBNP endógeno mostrou que o tamanho molecular poderia ser reduzido à massa primária calculada, sugerindo a O-glicosilação³².

Desde então, a identificação da glicosilação em proANP, proBNP e proCNP está em andamento³³⁻³⁶. Uma característica dessa alteração é a glicosilação variável de resíduos próximos aos locais de clivagem endoproteolítica. Um local parece ser um regulador da maturação do hormônio bioativo, onde a glicosilação bloqueia a endoprotease e evita a maturação e bioatividade³⁷. Uma outra descoberta decorrente da identificação de pró-formas glicosiladas é a O-glicosilação no bioativo real, por exemplo, hormônios de ligação ao receptor³³.

1.4 ENDOPROTEÓLISE

Com a identificação dos genes que codificam os peptídeos natriuréticos cardíacos, ficou claro que a endoproteólise estava envolvida na fase pós-tradução da expressão do peptídeo. Os três peptídeos natriuréticos constituem a parte C-terminal das pró-estruturas e o local comum para endoproteólise no proBNP e proCNP é um motivo “Arg-XX-Arg” localizado no terminal N dos hormônios identificados. O pró-hormônio convertase envolvido nessa clivagem é a furina, uma serina protease expressa na maioria das células^{10,11}.

O ProANP, por outro lado, é clivado por uma protease localizada nos cardiomiócitos, por exemplo, a corina. A corina está localizada dentro da membrana celular, o que sugere que essa clivagem é um evento tardio na via regulada, possivelmente até uma clivagem que ocorre durante a fusão granular com a membrana celular. A corina também está presente na circulação³⁸, podendo causar clivagem e maturação final do peptídeo pró-natriurético após a liberação celular. Os peptídeos natriuréticos maduros estão presentes em grânulos, o que significa que a clivagem transmembrana pode não ser o único caminho bioquímico para o ANP bioativo³⁹. Outras convertases pró-hormonais também estão presentes nos miócitos cardíacos. O pró-hormônio convertase 1/3, assim como a pró-hormônio convertase 2, foram relatadas em miócitos cardíacos⁴⁰⁻⁴².

1.5 OUTRAS MODIFICAÇÕES

As alterações pós-tradução também incluem modificações de aminoácidos, por exemplo, fosforilação, sulfatação, acetilação e amidação C-terminal. Nenhuma dessas alterações foi relatada nos peptídeos natriuréticos cardíacos. Porém, todas parecem possíveis no coração endócrino. Pela capacidade de O-sulfatação, as enzimas responsáveis são as tirosilproteínas sulfotransferases, presentes no tecido cardíaco. Além disso, ocorre sulfatação do conteúdo granular⁴³.

Os miócitos cardíacos expressam o gene CCK e o peptídeo resultante é sulfatado em 3 resíduos de tirosil²⁴. Como a adição de um grupo sulfato a um peptídeo representa apenas uma alteração menor na massa molecular, deve-se considerar que as pró-estruturas dos peptídeos natriuréticos contêm resíduos de tirosil sulfatados. Paralelamente à proCCK sulfatada no coração, a cromogranina A cardíaca também é uma proteína sulfatada. Para a fosforilação, um relatório sugeriu que a fosforilação no ANP bioativo pode ser um importante regulador da ligação ao receptor e da sinalização a jusante⁴⁴.

A possibilidade de amidação do conteúdo peptídico nos grânulos cardíacos ainda não foi esclarecida. Conforme mencionado, a enzima de amidação PAM é expressa nos grânulos atriais, mas apenas dois peptídeos amidados no coração endócrino foram identificados, CCK e adrenomedulina. Para a adrenomedulina, a expressão está envolvida no desenvolvimento cardíaco, assim como na IC, e o padrão de expressão parece se ajustar à expressão regional do PAM, que ocorre principalmente nos cardiomiócitos nos átrios. Uma característica no processo enzimático relacionado ao PAM é um motivo peptídico envolvendo um resíduo de glicina C-terminal como doador de amida. Embora os peptídeos natriuréticos não sejam estruturas relevantes para a amidação, pode ser que fragmentos de outros propeptídeos e proteínas granulares possam ser amidados. Como a purificação na característica de amidação é muito difícil, é preciso considerar que os peptídeos identificados nos grânulos também podem conter essa modificação, que envolve bioatividade como um peptídeo segregado²⁴.

1.6 SECREÇÃO

Os grânulos cardíacos se fundem com a membrana celular e liberam seu conteúdo na circulação. Devido à forma regulada de secreção celular, os grânulos são formados na via secretora do aparelho de Golgi. Ainda não está claro se os grânulos são formados e depois embalados com peptídeos ou se os propeptídeos imaturos se agregam e depois surgem na rede de Golgi. Porém, o proANP como estrutura propeptídica pode se agregar, o que requer a presença de cálcio^{45,46}. Além disso, a eliminação da parte C-terminal do proANP não afeta a formação granular, mas a remoção da parte N-terminal dispensa a formação granular. Esse fenótipo também foi observado em camundongos com o gene ANP completo deletado⁴⁷. Também foi observada uma falta de grânulos em células cardíacas desprovidas de PAM, o que

ressalta o papel da granina do PAM no coração. Até onde se sabe, a cromogranina A e a cromogranina B não foram silenciadas seletivamente nas células cardíacas e seu papel na formação granular no coração não está, portanto, esclarecido¹⁹.

Os grânulos que atingem a membrana celular são fundidos por sinalização extra ou intracelular. A visão tradicional sobre o estímulo da secreção cardíaca se baseia no estiramento mecânico, às vezes referido como tensão, dos miócitos cardíacos. Em fisiologia, isso faz sentido teleológico, uma vez que as câmaras cardíacas estão localizadas no centro do sistema circulatório. Assim, alterações na pré e pós-carga serão registradas pelos miócitos cardíacos, que poderão responder com aumento da contratilidade, aumento do ritmo cardíaco e liberação de potentes peptídeos que atuam no sistema circulatório. Três mecanismos estão envolvidos na secreção estimulada de peptídeos natriuréticos, principalmente por meio da estimulação mediada por estiramento de receptores acoplados a G, assim como por vários secretagogos, incluindo angiotensina e endotelina⁹. Foi demonstrado que as citocinas também estimulam a secreção, possivelmente por meio da ativação da p38 intracelular. O último mecanismo de estimulação parece estar relacionado apenas à secreção de grânulos contendo BNP, sugerindo o BNP em circulação como um marcador específico em transplante cardíaco e rejeição de órgãos^{48,49}.

2. A FAMÍLIA DOS PEPTÍDEOS NATRIURÉTICOS

Em 1981, de Bold et al¹ demonstraram a síntese por miócitos atriais do fator natriurético atrial (FNA), então denominado peptídeo natriurético atrial (ANP). O peptídeo natriurético cerebral ou peptídeo natriurético tipo B (BNP), inicialmente descoberto em 1988 no cérebro de porco⁴, está na realidade localizado principalmente nos cardiomiócitos atriais. Um terceiro peptídeo pertencente a essa família, o peptídeo natriurético tipo C (CNP), está localizado em um nível relativamente baixo em indivíduos saudáveis no sistema nervoso central (SNC), condrócitos e no sistema cardiovascular – células endoteliais, cardiomiócitos e fibroblastos⁵⁰.

A expressão gênica cardíaca e os níveis plasmáticos de CNP estão aumentados em pacientes com insuficiência cardíaca (IC) e associados a um fenótipo de alto risco. As funções endógenas do CNP incluem o controle do tônus vascular, angiogênese, modulação do fluxo sanguíneo coronariano, proliferação de células musculares lisas e endoteliais, fibrose e hipertrofia cardíaca e ativação de leucócitos⁵⁰. Quarto membro dessa família, a urodilatina é sintetizada e secretada pelo túbulo distal dos néfrons e é detectada apenas na urina. A urodilatina interage de forma parácrina com canais sensíveis de amilorida de sódio para promover diurese e natriurese e, assim, participa da regulação hidrossódica⁵¹.

2.2 ESTRUTURA, SÍNTESE E SECREÇÃO

Esses peptídeos são sintetizados na forma de pró-hormônios, produzidos principalmente pelos tecidos cardiovasculares, cerebrais e renais. São caracterizados por uma estrutura de anel comum de 17 aminoácidos, fechado por uma ligação dissulfeto entre duas cisteínas essenciais para sua atividade biológica. O ANP e o BNP são codificados por genes distintos – Nppa e Nppb, respectivamente –, mas localizados no mesmo cromossomo. Suas expressões em cardiomiócitos foram identificadas principalmente no nível atrial^{52,53}. Outras células também sintetizam e secretam ANP e BNP, como fibroblastos, células endoteliais, células imunológicas – neutrófilos, células T e macrófagos –, células-tronco hematopoiéticas progenitoras embrionárias, células musculares satélites e precursores cardíacos⁵⁴.

O pré-proANP humano é composto por 151 aminoácidos, depois clivado em 126 aminoácidos proANP, principal forma de armazenamento nos grânulos atriais. Rapidamente, o proANP é clivado após secreção pela corina, uma serina endoprotease transmembrana, para formar o ANP biologicamente ativo (28 aminoácidos) e o fragmento N-terminal biologicamente inativo (NT-proANP, 98 aminoácidos). O ANP também está presente em outros tecidos, como os ventrículos cardíacos e os rins, mas em concentrações mais baixas. A urodilatina resulta de um processo alternativo de clivagem do ANP 32 aminoácidos por uma protease desconhecida e desempenha um papel na regulação da excreção renal hidrossódica por um efeito parácrino⁵¹. Em resposta a variações no volume atrial – induzindo assim o estiramento do tecido – em vez de uma mudança na pressão atrial, o ANP – com meia-vida plasmática de 3 a 5 minutos – é secretado a partir de um conjunto de peptídeos previamente sintetizados e armazenado em grânulos em cardiomiócitos atriais⁵⁵.

O BNP humano é inicialmente sintetizado como 134 aminoácidos pré-pró-hormônio, clivado em 108 aminoácidos de cardiomiócitos proBNP, que por sua vez serão clivados por corina ou furina em 32 aminoácidos de BNP biologicamente ativo e 76 aminoácidos de NT-proBNP biologicamente inativo. ProBNP, BNP e NT-proBNP são secretados e podem ser medidos no plasma. Embora o BNP seja principalmente coarmazenado com o ANP em grânulos atriais em indivíduos saudáveis, ele também pode ser sintetizado em cardiomiócitos ventriculares em níveis significativos em condições de IC, mas não será armazenado em grânulos nesse último caso. A regulação da transcrição e excreção do gene BNP se baseia essencialmente no grau de estiramento da parede miocárdica, resultante da sobrecarga de volume e/ou aumento do gradiente transmural. As meias-vidas do BNP e do NT-proBNP são de cerca de 20 e 120 minutos, respectivamente⁵³.

2.3 RECEPTORES E LIBERAÇÃO

Existem três tipos de receptores NP⁵⁶:

- Receptores de peptídeos natriuréticos dos tipos A (NPR-A) e B (NPR-B), também conhecidos como guanilil ciclases particuladas e biologicamente ativas; e
- Receptor tipo C (NPR-C), atuando como um receptor de depuração.

Os NPs exercem os seus efeitos fisiológicos se ligando aos receptores de alta afinidade, NPR-A para ANP e BNP, NPR-B para CNP. O potencial de ligação das NPs aos seus receptores é o seguinte: NPR-A = ANP \geq BNP > CNP; NPR-B = CNP \geq ANP > BNP; NPR-C = ANP \geq CNP > BNP⁵⁶. Acoplados à guanilil ciclase, esses receptores são distribuídos por todo o organismo, incluindo coração, cérebro, rins, suprarrenais, pulmões, íleo terminal, aorta, fibroblastos e adipócitos. O NPR-A e o NPR-B são compostos por 3 domínios⁵⁶:

- Um segmento extracelular de aproximadamente 450 aminoácidos, que reconhece e fixa o NP;
- Um segmento transmembranar curto e uma região intracelular de cerca de 570 aminoácidos, composta por uma pseudoquinase ou domínio de homologia de quinase; e
- Um domínio dímero e o domínio de atividade da guanilil ciclase, responsável pela síntese do cGMP, o segundo mensageiro das NPS.

A NPR-C está presente nos rins, nos níveis glomerular e vascular, na parede vascular, nas suprarrenais, no coração, no mesentério, na placenta, nos pulmões e no cérebro. Seu domínio extracelular é cerca de 30% idêntico ao de NPR-A e NPR-B, mas esse receptor contém apenas 37 aminoácidos intracelulares sem um domínio de atividade de guanilil ciclase, mas com uma função de sinalização potencial⁵⁷.

Dois mecanismos principais participam na depuração de peptídeos cardíacos⁵⁸:

- Um mecanismo celular, por meio da internalização da membrana do complexo ligante-NPR-C, seguido por uma hidrólise lisossomal de NP e uma reciclagem do NPR-C na superfície celular; e
- Um mecanismo enzimático, por meio da ação de uma enzima proteolítica de clivagem, a neprilisina (NEP).

Evidências crescentes, no entanto, apoiam que outras proteases desempenham um papel na eliminação de NPs. Foi demonstrado que a meprina A está envolvida na clivagem N-terminal inicial do BNP, e considera-se que a meprina A e a NEP trabalham juntas na depuração do BNP. Além disso, os NPs são inativados pela ação da dipeptidil peptidase-4 (DPP IV) e da enzima degradadora da insulina (IDE), pertencentes à família das metaloproteínas⁵⁹. Além desses dois mecanismos de depuração, há também excreção urinária de NP⁶⁰.

2.4 CAMINHOS DE SINALIZAÇÃO

A ligação de agonistas a NPR-A e NPR-B induz uma mudança conformacional, que remove a inibição exercida pelo domínio pseudoquinase

no sítio da enzima, permitindo a síntese intracelular de cGMP a partir de trifosfato de guanosina com aumento nos níveis circulantes e urinários de cGMP. Os alvos intracelulares do cGMP são proteínas quinases G dependentes de cGMP dos tipos I e II (PKG-I e II), canais controlados por nucleotídeos cíclicos (CNGC) e PDEs específicas que controlam diretamente o nível de nucleotídeos cíclicos e, mais particularmente, o do cGMP^{61,62}.

2.4.1 Proteína quinase G dos tipos I e II

O efeito vasorrelaxante das NPs na musculatura lisa vascular é parcialmente mediado pela PKG-I, abundante em particular nos cardiomiócitos e no sistema vascular. Reduz a presença de Ca²⁺ intracelular por diversas ações sinérgicas⁶³:

- Aumento da produção de Ca²⁺ pela membrana;
- Diminuição da entrada de Ca²⁺ pela membrana;
- Sequestro de Ca²⁺ no retículo sarcoplasmático; e
- Diminuição da mobilização de Ca²⁺.

Todas essas ações diminuem a sensibilidade dos elementos contráteis ao Ca²⁺ e promovem o relaxamento muscular. Essas ações sinérgicas de PKG-I são realizadas por meio da fosforilação dos canais de Ca²⁺ dependentes de voltagem, canais dependentes de K⁺ /Ca²⁺ (canais BK e K ATP), bomba transmembrana de Ca²⁺ -ATPase, bomba transmembrana de Ca²⁺ -ATPase, receptor de trifosfato de inositol e fosfolambanos localizados na membrana do retículo sarcoplasmático⁶³. A proteína quinase G do tipo II é uma enzima de membrana ausente no sistema cardiovascular, mas presente no rim, onde exerce ação tubular proximal ao inibir a reabsorção de Na⁺ pelo trocador Na⁺ /H⁺ (NHE3) e ação sobre células justa-glomerulares, inibindo a secreção de renina e, portanto, a síntese de angiotensina II e aldosterona, resultando em uma diminuição distal na reabsorção de água e sódio⁶⁴.

Mais do que um receptor de depuração – embora não possua atividades de guanilil ciclase e quinase – o NPR-C é considerado biologicamente ativo. Combinado com um domínio intracelular de ativação da subunidade α da proteína G_i, o NPR-C ativado inibiria a atividade da adenilil ciclase e diminuiria o nível intracelular de adenosina 3',5'-monofosfato cíclico (cAMP), que modula a fosfolipase C (PLC), quinase relacionada ao sinal extracelular (ERK) 1/2 e proteína quinase B (Akt). Assim, sua estimulação inibiria a proliferação de células musculares lisas vasculares por meio da via da proteína quinase ativada por mitógeno (MAPK) e da via da fosfo-inositol 3 quinase (PI3-quinase)⁵⁰.

De forma geral, foi sugerido que os efeitos atribuídos ao ANP, BNP ou CNP, mas não explicados por um aumento no cGMP, poderiam ser atribuídos à estimulação do NPR-C pelos NPs. Esses efeitos estariam relacionados à inibição das secreções de aldosterona, renina e vasopressina pelo ANP, assim como ao efeito antiproliferativo do ANP e do BNP. Considera-se que a ativação biológica do NPR-C esteja envolvida em muitas

doenças, como hipertensão, obesidade, doença coronariana ou IC⁶⁵. Nesse contexto, está estabelecido que diferentes disfunções dos PDEs também estão envolvidas nestas patologias⁶².

2.4.2 Fosfodiesterases de nucleotídeos cíclicos (PDEs)

Os peptídeos natriuréticos atuam no nível do coração, estimulando a síntese de nucleotídeos cíclicos, como o cGMP. Os PDEs, responsáveis pela sua hidrólise, coordenam as respostas fisiológicas e hormonais sob condições normais e patológicas, controlando o sinalossoma nas cascatas de fosforilação e a expressão de genes dependentes de nucleotídeos cíclicos. Por isso, esse caminho de regulação do cGMP mediado pelos NPs não deve ser negligenciado. As fosfodiesterases de nucleotídeos cíclicos representam uma superfamília enzimática que consiste em 11 famílias de genes (PDE1 a PDE11). Cada família inclui 1 a 4 genes distintos, representando um conjunto de mais de 20 genes em mamíferos que codificam mais de 100 proteínas ou isoenzimas diferentes^{62,66-68}.

Fosfodiesterases de nucleotídeos cíclicos geralmente existem na forma de dímeros. Suas estruturas monoméricas têm uma estrutura comum de três domínios distintos. O domínio regulador N-terminal caracteriza cada família e suas variantes. O domínio catalítico, consistindo de cerca de 350 aminoácidos, é relativamente preservado. A multiplicidade de propriedades bioquímicas e estruturais das PDEs, suas especificidades teciduais, distribuições subcelulares, regulações transcricionais e pós-transcricionais permitem isoenzimas PDE alteradas durante uma patologia, com a finalidade de evitar ou reduzir os efeitos adversos induzidos por tratamentos não específicos. Em relação às doenças cardiovasculares, alterações de sinalização intracelular induzidas pela desregulação principalmente das PDEs cardíacas poderiam explicar algumas dificuldades terapêuticas encontradas⁶⁶⁻⁶⁸.

2.5 EFEITOS FISIOLÓGICOS DO ANP E DO BNP

Devido à ampla distribuição da NPR-A, os efeitos biológicos das NPs são vários e promovem principalmente uma redução do volume sanguíneo e da pressão arterial.

2.5.1 Efeitos renais

Os potentes efeitos natriuréticos e diuréticos do ANP e do BNP são mediados principalmente pela PKG-II presente nas células epiteliais dos diferentes segmentos do néfron. Esses efeitos estão relacionados ao aumento da taxa de ultrafiltração glomerular e da fração de filtração, inibição do canal apical de sódio sensível à amilorida e da bomba basal-lateral de Na⁺/K⁺ + adenosina trifosfatase, promovendo redução da reabsorção de sódio no tubo coletor, aumentando a excreção urinária de sódio⁶⁹.

O aumento da taxa de filtração glomerular e da fração de filtração resulta da dilatação das arteríolas aferentes associada à constrição das

arteríolas eferentes (mediada pela PKG-I), levando ao aumento da pressão hidrostática capilar glomerular. Esses efeitos promovem a ultrafiltração e também contribuem para a redução do gradiente de sódio e da reabsorção de água⁷⁰. Além disso, o ANP inibe o sistema renina-angiotensina-aldosterona (SRAA) e, com isso, reduz o transporte de sódio e água induzido pela angiotensina II no túbulo proximal, a secreção de renina pelas células granulares justaglomerulares e a síntese de aldosterona pelas glândulas suprarrenais⁷¹.

2.5.2 Efeitos cardiovasculares

Embora esse efeito não reflita uma ação endócrina, mas sim autócrina, o BNP tem um efeito lusitrópico positivo ao promover o relaxamento miocárdico e, portanto, o enchimento ventricular⁷². No nível vascular, dois mecanismos principais são responsáveis pela ação do ANP e do BNP – o relaxamento do tônus da musculatura lisa vascular e, portanto, da resistência periférica, estimulando a síntese de monóxido de nitrogênio (NO); e a inibição do SRAA, por um lado, e o aumento na permeabilidade capilar levando a um aumento no hematócrito, por outro. O aumento da permeabilidade capilar parece ser o principal efeito das NPs em condições fisiológicas⁷³.

2.5.3 Efeitos nos sistemas neuro-hormonais

O ANP modula a atividade do sistema nervoso autônomo. Reduz a atividade dos barorreceptores e dos quimiorreceptores cardíacos e pulmonares, inibindo as vias eferentes simpáticas para o coração. Essa redução na atividade simpática e aumento da atividade vagal leva a uma diminuição na frequência cardíaca e no débito. A inibição da atividade simpática renal pelo ANP e BNP também promove diminuição da liberação de renina e reabsorção de sódio. Tanto o ANP quanto o BNP contribuem para a redução do volume sanguíneo ao inibir a sede, a ingestão de sal e a secreção de arginina vasopressina induzida pela angiotensina II na glândula pituitária, inibindo assim a reabsorção de água pelas aquaporinas tipo 2 no coletor principal renal^{74,75}.

2.5.4 Efeitos celulares

O ANP inibe a proliferação de células musculares lisas vasculares e a hipertrofia induzida pela angiotensina II em condições de cultura celular, enquanto o BNP inibe a remodelação cardíaca por efeitos antifibróticos^{76,77}. Os NPs também regulam os processos de diferenciação e proliferação de cardiomiócitos durante a vida embrionária, levando a altos níveis de BNP durante a gestação no coração embrionário, juntamente com um alto nível plasmático de BNP no nascimento, que depois diminui gradualmente para se estabilizar por volta dos 10 anos de idade⁷⁸⁻⁸⁰.

Os NPs também contam com propriedades citoprotetoras. Eles limitaram o tamanho de um infarto causado por ligadura-reperusão coronária

em um modelo cardíaco de ratos isolados. Esse fenômeno de pré-condicionamento estaria associado a um aumento no cGMP e envolveria a abertura dos canais K ATP mitocondriais⁸¹. As propriedades antiapoptóticas e antioxidantes do BNP também foram identificadas, mas permanecem controversas⁸²⁻⁸⁴. No músculo esquelético, o BNP recombinante previne os efeitos deletérios da isquemia-reperfusão, reduzindo a disfunção da cadeia respiratória mitocondrial, a produção de espécies reativas de oxigênio (ROS) e a apoptose, possivelmente envolvendo a abertura dos canais K ATP mitocondriais⁸⁵.

2.5.5 Efeitos no tecido adiposo

Por meio de ações sobre a perilipina A e a lipase hormônio sensível (HSL) secundárias à ativação da via cGMP/PKG-I, os NPs regulam a expansão do tecido adiposo visceral por lipólise e participam do estado caquético dos estágios avançados da IC. Eles estão envolvidos no metabolismo lipídico, promovendo a biogênese mitocondrial e o gasto energético dos adipócitos através da via p38 MAPK. Também foi proposto que os NPs podem desempenhar um papel na patogênese da síndrome metabólica, onde é observada uma concentração circulante de NP abaixo do esperado⁸⁶⁻⁸⁸. A força das relações entre NP (MR-proANP) e índice de massa corporal, circunferência da cintura e pressão arterial diastólica foi significativamente maior entre os adultos jovens em comparação a adolescentes. Estas concentrações circulantes mais baixas de NPs poderiam desempenhar um papel nos estágios iniciais do desenvolvimento da hipertensão⁸⁹.

3. MEDIÇÃO DE HORMÔNIOS CARDÍACOS EM PACIENTES COM SUSPEITA DE IC

A insuficiência cardíaca (IC) é um importante problema de saúde pública mundial. Somente nos Estados Unidos, afeta quase 5 milhões de pessoas, sendo responsável por aproximadamente 1 milhão de hospitalizações e 50 mil mortes a cada ano⁹⁰. A prevalência de IC sintomática na Europa é estimada em cerca de 0,4 a 2%⁹¹. Estima-se que o aumento da esperança média de vida, juntamente com a melhoria das taxas de sobrevivência em pacientes com outras doenças cardiovasculares e após infarto do miocárdio, resulte em um aumento significativo na prevalência de IC no futuro e que a forma assintomática da disfunção sistólica do ventrículo esquerdo seja tão comum quanto a IC congestiva sintomática⁹².

A precisão do diagnóstico de IC apenas por meios clínicos é, muitas vezes, inadequada, especialmente em mulheres, idosos ou obesos, e quando estão presentes doenças pulmonares e cardíacas crônicas associadas^{93,94}. O diagnóstico de IC congestiva foi baseado na gravidade dos sintomas, assim como no eletrocardiograma e na radiografia de tórax. A ecocardiografia fornece informações diagnósticas e prognósticas específicas, mas não é adequada para triagem ou diagnóstico rápido à beira do leito. Medições

invasivas – angiografia coronária, monitoramento hemodinâmico – fornecem um indicador objetivo da gravidade da IC, mas nenhuma delas é indicada como procedimento de rotina⁹¹.

Assim, há necessidade de testes bioquímicos de diagnóstico de comprometimento cardíaco. Os hormônios cardíacos surgiram como marcadores potencialmente úteis que podem auxiliar no diagnóstico de IC. As diretrizes para o diagnóstico e tratamento da IC crônica da European Society of Cardiology (ESC) consideram que os níveis circulantes de peptídeos natriuréticos podem ser mais úteis clinicamente, como um teste de exclusão devido a valores preditivos negativos consistentes e muito elevados⁹¹. De acordo com as diretrizes práticas do American College of Cardiology/American Heart Association (ACC/AHA) para avaliação e tratamento da IC, o papel do BNP sanguíneo na identificação de pacientes com insuficiência cardíaca congestiva ainda precisa ser totalmente esclarecido⁹⁵.

Estudos iniciais demonstraram que os níveis plasmáticos de ANP estão elevados em pacientes com IC congestiva sintomática, proporcionalmente à gravidade da doença⁹⁶⁻⁹⁸. Posteriormente, estudos demonstraram que o ANP e o N-ANP plasmáticos também estão elevados em pacientes assintomáticos com disfunção ventricular esquerda, embora menos do que em pacientes com sintomas óbvios de IC^{99,100}. As concentrações de BNP têm sido usadas para avaliar a gravidade da IC^{101,102}.

As concentrações de BNP em pacientes com IC se correlacionam com a classe funcional da NYHA, hemodinâmica, pressão de enchimento ventricular esquerdo medida invasivamente, fração de ejeção do ventrículo esquerdo medida por angiografia com radionuclídeos e ecocardiografia e com outros índices de IC, como a pressão de oclusão da artéria pulmonar¹⁰³. A concentração de BNP pode ser utilizada como alternativa ao teste de caminhada de 6 minutos para avaliar a gravidade da IC e prever a capacidade funcional em pacientes com IC crônica^{104,105}. Foi relatado que o BNP e o N-BNP estão correlacionados entre si e com a fração de ejeção do ventrículo esquerdo. Além disso, o aumento do N-BNP é 4 vezes maior do que o do BNP em indivíduos com disfunção ventricular esquerda moderada. Os valores plasmáticos de BNP aumentam durante a sobrecarga do ventrículo direito¹⁰⁶.

A medição do nível hormonal cardíaco pode ser útil para identificar pacientes com suspeita de IC que precisam de avaliação diagnóstica adicional, especialmente quando a ecocardiografia não está prontamente disponível, ou para complementar a ecocardiografia. Lerman et al⁹⁹ demonstraram que o N-ANP aumentou consistentemente em pacientes classe I da NYHA com disfunção ventricular esquerda assintomática e foi mais sensível e específico que o ANP. Posteriormente, vários estudos examinaram o valor diagnóstico de diferentes peptídeos natriuréticos em relação à disfunção sistólica do ventrículo esquerdo na população em geral, em um estudo de base populacional, em programas de exames de saúde,

clínica geral, indivíduos de alto risco, indivíduos com suposta IC, indivíduos submetidos a cateterismo cardíaco, no ambiente de atendimento de urgência e em pacientes após infarto do miocárdio¹⁰⁷⁻¹¹¹.

Cowie et al¹¹² mostraram como o BNP poderia descartar IC congestiva em indivíduos recentemente sintomáticos e identificar pacientes que precisam de investigação adicional na clínica geral. Um nível de BNP de 22,2 pmol/litro ou superior teve sensibilidade de 97%, especificidade de 84% e valor preditivo positivo de 70%. Em relatório, Nielsen et al¹⁰⁹ avaliaram o valor diagnóstico do BNP em indivíduos sem sintomas agudos de IC na população geral. Os resultados sugerem que indivíduos de baixo e alto risco podem ser identificados por parâmetros clínicos simples, e um ensaio subsequente de BNP sensível exclui significativamente a disfunção sistólica do ventrículo esquerdo em indivíduos com menos de 75 anos de idade e em risco. A triagem pelo BNP antes do ecocardiograma foi mais custo-efetiva do que encaminhar todos os indivíduos para ecocardiografia.

A experiência clínica sugere que o BNP pode ter utilidade no atendimento de urgência, onde tem sido usado para discriminar com precisão a dispneia aguda devido à IC congestiva de outras causas¹¹³. Em uma amostra multinacional de homens e mulheres atendidos no departamento de emergência com dispneia aguda, a medição do BNP teria acrescentado no diagnóstico final de IC congestiva. Nos pacientes com probabilidade intermediária de IC congestiva, o BNP teria esclarecido o diagnóstico na maioria dos casos¹¹¹. Nos indivíduos com níveis plasmáticos de BNP normais, outras causas de dispneia devem ser consideradas. Porém, foi relatada uma dispersão mais ampla dos níveis de BNP em pacientes com doenças pulmonares e dispneia grave¹¹⁴.

Os hormônios cardíacos plasmáticos também estão elevados em pacientes com hipertrofia ventricular esquerda e disfunção diastólica ventricular esquerda^{115,116}. Foi relatado que os níveis plasmáticos de hormônios cardíacos se correlacionam com a massa ventricular esquerda em pacientes com hipertensão^{115,116}, embora nenhuma correlação entre a massa ventricular esquerda e o N-BNP tenha sido encontrada no estudo de Talwar et al¹¹⁷. O nível plasmático de N-ANP também está correlacionado com a massa ventricular esquerda na população em geral. Lang et al¹¹⁸ encontraram níveis elevados de BNP e ANP plasmáticos em pacientes com disfunção diastólica isolada, na ausência de insuficiência sistólica ou hipertrofia ventricular esquerda.

Embora sejam necessários mais estudos clínicos para estabelecer o papel ideal dos hormônios cardíacos no diagnóstico da IC e nas estratégias de rastreamento, sua medição é relevante para o tratamento de pacientes com suspeita da condição. O N-ANP, o BNP e o N-BNP parecem fornecer informações qualitativamente semelhantes. A incorporação da dosagem hormonal cardíaca na avaliação clínica auxilia no diagnóstico de IC por disfunção sistólica e/ou diastólica do ventrículo esquerdo, sendo um nível normal de BNP um indicativo de exclusão de diagnóstico de IC

descompensada e um BNP acentuadamente elevado em pacientes com sintomas agudos de início recente um alto valor preditivo positivo para IC. O valor preditivo negativo dos hormônios cardíacos é especialmente alto quando são avaliados indivíduos com alto risco de disfunção ventricular esquerda¹¹⁹.

Deve-se notar, entretanto, que elevações moderadas dos hormônios cardíacos plasmáticos precisam de especificidade. Além da IC congestiva, infarto do miocárdio, hipertrofia ventricular, cardiomiopatia, doenças valvares, taquicardias, insuficiência renal e doenças pulmonares podem aumentar os níveis de peptídeos natriuréticos. Na IC tratada, mesmo na presença de comprometimento sustentado da fração de ejeção do ventrículo esquerdo, os peptídeos natriuréticos plasmáticos podem retornar à faixa normal e, portanto, como teste de triagem em pacientes com diagnóstico provisório de IC que estão sintomaticamente bem e estabelecidos na terapia de longo prazo, o BNP pode ser insuficiente. Os dados também indicam que são necessários valores específicos para idade e sexo¹¹⁹.

REFERÊNCIAS

1. de Bold AJ, Borenstein HB, Veress AT, Sonnenberg H. A rapid and potent natriuretic response to intravenous injection of atrial myocardial extract in rats. *Life Sci.* 1981;28:89–94.
2. 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;117:859–865.
3. Kangawa K, Matsuo H. Purification and complete amino acid sequence of alpha-human atrial natriuretic polypeptide (alpha hANP). *Biochem Biophys Res Commun.* 1984;118:131–139.
4. Sudoh T, Kangawa K, Minamino N, Matsuo H. A new natriuretic peptide in porcine brain. *Nature.* 1988;332:78–81.
5. 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.
6. Burnett JC Jr, Kao PC, Hu DC, Hesser DW, Heublein D, Granger JP, Opgenorth TJ, Reeder GS. Atrial natriuretic peptide elevation in congestive heart failure in the human. *Science.* 1986;231:1145–1147.
7. Daniels LB, Maisel AS. Natriuretic peptides. *J Am Coll Cardiol.* 2007;50:2357–2368.
8. Richards AM. N-terminal B-type natriuretic peptide in heart failure. *Heart Fail Clin.* 2018;14:27–39.
9. Goetze JP, Bruneau BG, Ramos HR, Ogawa T, de Bold MK, de Bold AJ. Cardiac natriuretic peptides. *Nat Rev Cardiol.* 2020;17:698–717.

10. Yan W, Wu F, Morser J, Wu Q. Corin, a transmembrane cardiac serine protease, acts as a pro-atrial natriuretic peptide-converting enzyme. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2000;97:8525–8529.
11. Wu F, Yan W, Pan J, Morser J, Wu Q. Processing of pro-atrial natriuretic peptide by corin in cardiac myocytes. *J Biol Chem*. 2002;277:16900–16905.
12. Jamieson JD, Palade GE. Specific granules in atrial muscle cells. *J Cell Biol*. 1964;23:151–172.
13. Steiner HJ, Weiler R, Ludescher C, Schmid KW, Winkler H. Chromogranins A and B are co-localized with atrial natriuretic peptides in secretory granules of rat heart. *J Histochem Cytochem*. 1990;38:845–850.
14. Pieroni M, Corti A, Tota B, Curnis F, Angelone T, Colombo B, Cerra MC, Bellocchi F, Crea F, Maseri A. Myocardial production of chromogranin A in human heart: A new regulatory peptide of cardiac function. *Eur Heart J*. 2007;28:1117–1127.
15. Heidrich FM, Zhang K, Estrada M, Huang Y, Giordano FJ, Ehrlich BE. Chromogranin B regulates calcium signaling, nuclear factor kappaB activity, and brain natriuretic peptide production in cardiomyocytes. *Circ Res*. 2008;102:1230–1238.
16. Eipper BA, May V, Braas KM. Membrane-associated peptidylglycine alpha-amidating monooxygenase in the heart. *J Biol Chem*. 1988;263:8371–8379.
17. Ouafik L, May V, Keutmann HT, Eipper BA. Developmental regulation of peptidylglycine alpha-amidating monooxygenase (PAM) in rat heart atrium and ventricle. Tissue-specific changes in distribution of PAM activity, mRNA levels, and protein forms. *J Biol Chem*. 1989;264:5839–5845.
18. Powers KG, Ma XM, Eipper BA, Mains RE. Identifying roles for peptidergic signaling in mice. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2019;116:20169–20179.
19. Bäck N, Luxmi R, Powers KG, Mains RE, Eipper BA. Peptidylglycine-amidating monooxygenase is required for atrial secretory granule formation. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2020;117:17820–17831.
20. Bartels ED, Goetze JP, Mains RE, Eipper BA. Commentary on: Peptidylglycine-amidating monooxygenase is required for atrial secretory granule formation. *J Clin Cardiol*. 2021;2:75–80.
21. Hasegawa K, Fujiwara H, Doyama K, Mukoyama M, Nakao K, Fujiwara T, Imura H, Kawai C. Ventricular expression of atrial and brain natriuretic peptides in dilated cardiomyopathy. An immunohistochemical study of the endomyocardial biopsy specimens using specific monoclonal antibodies. *Am J Pathol*. 1993;142:107–116.
22. Christoffersen C, Goetze JP, Bartels ED, Larsen MO, Ribel U, Rehfeld JF, Rolin B, Nielsen LB. Chamber-dependent expression of brain natriuretic peptide and its mRNA in normal and diabetic pig heart. *Hypertension*. 2002;40:54–60.

23. Takemura G, Takatsu Y, Doyama K, Itoh H, Saito Y, Koshiji M, Ando F, Fujiwara T, Nakao K, Fujiwara H. Expression of atrial and brain natriuretic peptides and their genes in hearts of patients with cardiac amyloidosis. *J Am Coll Cardiol.* 1998;31:754–765.
24. Goetze JP, Johnsen AH, Kistorp C, Gustafsson F, Johnbeck CB, Rehfeld JF. Cardiomyocyte expression and cell-specific processing of procholecystokinin. *J Biol Chem.* 2015;290:6837–6843.
25. Goetze JP, Rehfeld JF. Procholecystokinin expression and processing in cardiac myocytes. *Peptides.* 2019;111:71–76.
26. Siriwardena M, Kleffmann T, Ruygrok P, Cameron VA, Yandle TG, Nicholls MG, Richards AM, Pemberton CJ. B-type natriuretic peptide signal peptide circulates in human blood: Evaluation as a potential biomarker of cardiac ischemia. *Circulation.* 2010;122:255–264.
27. Pemberton CJ, Siriwardena M, Kleffmann T, Ruygrok P, Palmer SC, Yandle TG, Richards AM. First identification of circulating prepro-A-type natriuretic peptide (preproANP) signal peptide fragments in humans: Initial assessment as cardiovascular biomarkers. *Clin Chem.* 2012;58:757–767.
28. Pemberton CJ, Siriwardena M, Kleffmann T, Richards AM. C-type natriuretic peptide (CNP) signal peptide fragments are present in the human circulation. *Biochem Biophys Res Commun.* 2014;449:301–306.
29. Hunt PJ, Yandle TG, Nicholls MG, Richards AM, Espiner EA. The amino-terminal portion of pro-brain natriuretic peptide (Pro-BNP) circulates in human plasma. *Biochem Biophys Res Commun.* 1995;214:1175–1183.
30. Shimizu H, Masuta K, Aono K, Asada H, Sasakura K, Tamaki M, Sugita K, Yamada K. Molecular forms of human brain natriuretic peptide in plasma. *Clin Chim Acta.* 2002;316:129–135.
31. Goetze JP, Kastrop J, Pedersen F, Rehfeld JF. Quantification of pro-B-type natriuretic peptide and its products in human plasma by use of an analysis independent of precursor processing. *Clin Chem.* 2002;48:1035–1042.
32. Schellenberger U, O'Rear J, Guzzetta A, Jue RA, Protter AA, Pollitt NS. The precursor to B-type natriuretic peptide is an O-linked glycoprotein. *Arch Biochem Biophys.* 2006;45:160–166.
33. Hansen LH, Madsen TD, Goth CK, Clausen H, Chen Y, Dzhoyashvili N, Iyer SR, Sangaralingham SJ, Burnett JC Jr, Rehfeld JF, et al. Discovery of O-glycans on atrial natriuretic peptide (ANP) that affect both its proteolytic degradation and potency at its cognate receptor. *J Biol Chem.* 2019;294:12567–12578.
34. Lewis LK, Raudsepp SD, Prickett TCR, Yandle TG, Doughty RN, Frampton CM, Pemberton CJ, Richards AM. ProBNP that is not glycosylated at Threonine 71 is decreased with obesity in patients with heart failure. *Clin Chem.* 2019;65:1115–1124.

35. Madsen TD, Hansen LH, Hintze J, Ye Z, Jebari S, Andersen DB, Joshi HJ, Ju T, Goetze JP, Martin C, et al. An atlas of O-linked glycosylation on peptide hormones reveals diverse biological roles. *Nat Commun.* 2020;11:4033.
36. Amplatz B, Sarg B, Faserl K, Hammerer-Lercher A, Mair J, Lindner HH. Exposing the high heterogeneity of circulating pro B-type natriuretic peptide fragments in healthy individuals and heart failure patients. *Clin Chem.* 2020;66:1200–1209.
37. Semenov AG, Postnikov AB, Tamm NN, Seferian KR, Karpova NS, Bloschitsyna MN, Koshkina EV, Krasnoselsky MI, Serebryanaya DV, Katrukha AG. Processing of pro-brain natriuretic peptide is suppressed by O-glycosylation in the region close to the cleavage site. *Clin Chem.* 2009;55:489–498.
38. Ichiki T, Huntley BK, Heublein DM, Sandberg SM, McKie PM, Martin FL, Jougasaki M, Burnett JC Jr. Corin is present in the normal human heart, kidney, and blood, with pro-B-type natriuretic peptide processing in the circulation. *Clin Chem.* 2011;57:40–47.
39. Sawada Y, Suda M, Yokoyama H, Kanda T, Sakamaki T, Tanaka S, Nagai R, Abe S, Takeuchi T. Stretch-induced hypertrophic growth of cardiocytes and processing of brain-type natriuretic peptide are controlled by proprotein-processing endoprotease furin. *J Biol Chem.* 1997;272:20545–20554.
40. Lee YC, Damholt AB, Billestrup N, Kisbye T, Galante P, Michelsen B, Kofod H, Nielsen JH. Developmental expression of proprotein convertase 1/3 in the rat. *Mol Cell Endocrinol.* 1999;155:27–35.
41. Bloomquist BT, Eipper BA, Mains RE. Prohormone-converting enzymes: Regulation and evaluation of function using antisense RNA. *Mol Endocrinol.* 1991;5:2014–2024.
42. Beaubien G, Schäfer MK, Weihe E, Dong W, Chrétien M, Seidah NG, Day R. The distinct gene expression of the pro-hormone convertases in the rat heart suggests potential substrates. *Cell Tissue Res.* 1995;279:539–549.
43. Mishiro E, Sakakibara Y, Liu MC, Suiko M. Differential enzymatic characteristics and tissue-specific expression of human TPST-1 and TPST-2. *J Biochem.* 2006;140:731–737.
44. Dautzenberg FM, Müller D, Richter D. Dephosphorylation of phosphorylated atrial natriuretic peptide by protein phosphatase 2A. *Eur J Biochem.* 1993;211:485–490.
45. Canaff L, Brechler V, Reudelhuber TL, Thibault G. Secretory granule targeting of atrial natriuretic peptide correlates with its calcium-mediated aggregation. *Proc Natl Acad Sci USA.* 1996;93:9483–9487.
46. Baertschi AJ, Monnier D, Schmidt U, Levitan ES, Fakan S, Roatti A. Acid prohormone sequence determines size, shape, and docking of secretory vesicles in atrial myocytes. *Circ Res.* 2001;89:E23–E29.

47. John SW, Krege JH, Oliver PM, Hagaman JR, Hodgins JB, Pang SC, Flynn TG, Smithies O. Genetic decreases in atrial natriuretic peptide and salt-sensitive hypertension. *Science*. 1995;267:679–681.
48. Masters RG, Davies RA, Veinot JP, Hendrym PJ, Smith SJ, de Bold AJ. Discoordinate modulation of natriuretic peptides during acute cardiac allograft rejection in humans. *Circulation*. 1999;100:287–291.
49. de Bold AJ. Determinants of brain natriuretic peptide gene expression and secretion in acute cardiac allograft rejection. *Curr Opin Cardiol*. 2007;22:146–150.
50. Moyes AJ, Hobbs AJ. C-type Natriuretic Peptide: A Multifaceted Paracrine Regulator in the Heart and Vasculature. *Int J Mol Sci*. 2019;20:2281.
51. Meyer M, Richter R, Forssmann WG. Urodilatin, a natriuretic peptide with clinical implications. *Eur J Med Res*. 1998;21:103–110.
52. Nakamura S, Naruse M, Naruse K, Kawana M, Nishikawa T, Hosoda S, et al. Atrial natriuretic peptide and brain natriuretic peptide coexist in the secretory granules of human cardiac myocytes. *Am J Hypertens*. 1991;4:909–912.
53. Durocher D, Grepin C, Nemer M. Regulation of gene expression in the endocrine heart. *Recent Prog Horm Res*. 1998;53:7–23.
54. Fu S, Ping P, Wang F, Luo L. Synthesis, secretion, function, metabolism and application of natriuretic peptides in heart failure. *J Biol Eng*. 2018;12:2–21.
55. Edwards BS, Zimmerman RS, Schwab TR, Heublein DM, Burnett JC Jr. Atrial stretch, not pressure, is the principal determinant controlling the acute release of atrial natriuretic factor. *Circ Res*. 1988;62:191–195.
56. Stoupakis G, Klapholz M. Natriuretic peptides: Biochemistry, physiology, and therapeutic role in heart failure. *Heart Dis*. 2003;5:215–223.
57. Potter LR, Abbey-Hosch S, Dickey DM. Natriuretic peptides, their receptors, and cyclic guanosine monophosphate-dependent signaling functions. *Endocr Rev*. 2006;27:47–72.
58. Cohen D, Koh GY, Nikonova LN, Porter JG, Maack T. Molecular determinants of the clearance function of type C receptors of natriuretic peptides. *J Biol Chem*. 1996;27:9863–9869.
59. Ralat LA, Guo Q, Ren M, Funke T, Dickey DM, Potter LR, et al. Insulin-degrading enzyme modulates the natriuretic peptide-mediated signaling response. *J Biol Chem*. 2011;286:4670–4679.
60. Gupta DK, Wang TJ. Natriuretic Peptides and Cardiometabolic Health. *Circ J*. 2015;79:1647–1655.
61. De Bold AJ, Bruneau BG, Kuroski de Bold ML. Mechanical and neuroendocrine regulation of the endocrine heart. *Cardiovasc Res*. 1996;31:7–18.

62. Keravis T, Lugnier C. Cyclic nucleotide phosphodiesterase (PDE) isozymes as targets of the intracellular signalling network: Benefits of PDE inhibitors in various diseases and perspectives for future therapeutic developments. *Br J Pharmacol.* 2012;165:1288–1305.
63. Lincoln TM, Dey N, Sellak H. Invited review: cGMP-dependent protein kinase signaling mechanisms in smooth muscle: From the regulation of tone to gene expression. *J Appl Physiol.* 2001;91:1421–1430.
64. Vaandrager AB, Hogema BM, de Jonge HR. Molecular properties and biological functions of cGMP-dependent protein kinase II. *Front Biosci.* 2005;10:2150–2164.
65. Rubattu S, Sciarretta S, Morriello A, Calvieri C, Battistoni A, Volpe M. NPR-C: A component of the natriuretic peptide family with implications in human diseases. *J Mol Med (Berl).* 2010;88:889–897.
66. Azevedo MF, Faucz FR, Bimpaki E, Horvath A, Levy I, de Alexandre RB, et al. Clinical and molecular genetics of the phosphodiesterases (PDEs). *Endocr Rev.* 2014;35:195–233.
67. Maurice DH, Ke H, Ahmad F, Wang Y, Chung J, Manganiello VC. Advances in targeting cyclic nucleotide phosphodiesterases. *Nat Rev Drug Discov.* 2014;13:290–314.
68. Ahmad F, Murata T, Shimizu K, Degerman E, Maurice D, Manganiello V. Cyclic nucleotide phosphodiesterases: Important signaling modulators and therapeutic targets. *Oral Dis.* 2015;21:e25–e50.
69. Theilig F, Wu Q. ANP-induced signaling cascade and its implications in renal pathophysiology. *Am J Physiol Renal Physiol.* 2015;308:F1047–F1055.
70. Maack T. Role of atrial natriuretic factor in volume control. *Kidney Int.* 1996;49:1732–1737.
71. Bae EH, Ma SK, Lee J, Kim SW. Altered regulation of renal nitric oxide and atrial natriuretic peptide systems in angiotensin II-induced hypertension. *Regul Pept.* 2011;10:31–37.
72. Chen HH, Burnett JC. Natriuretic peptides in the pathophysiology of congestive heart failure. *Curr Cardiol Rep.* 2000;2:198–205.
73. McGrath MF, de Bold ML, de Bold AJ. The endocrine function of the heart. *Trends Endocrinol Metab.* 2005;16:469–477.
74. Tarjan E, Denton DA, Weisinger RS. Atrial natriuretic peptide inhibits water and sodium intake in rabbits. *Regul Pept.* 1988;23:63–75.
75. Matsukawa T, Miyamoto T. Angiotensin II-stimulated secretion of arginine vasopressin is inhibited by atrial natriuretic peptide in humans. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol.* 2011;300:R624–R629.
76. Itoh H, Pratt RE, Dzau VJ. Interaction of atrial natriuretic polypeptide and angiotensin II on protooncogene expression and vascular cell growth. *Biochem Biophys Res Commun.* 1991;176:1601–1609.

77. Tamura N, Ogawa Y, Chusho H, Nakamura K, Nakao K, Suda M, et al. Cardiac fibrosis in mice lacking brain natriuretic peptide. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2000;97:4239–4244.
78. Das BB, Raj S, Solinger R. Natriuretic peptides in cardiovascular diseases of fetus, infants and children. *Cardiovasc Hematol Agents Med Chem*. 2009;7:43–51.
79. Schwachtgen L, Herrmann M, Georg T, Schwarz P, Marx N, Lindinger A. Reference values of NT-proBNP serum concentrations in the umbilical cord blood and in healthy neonates and children. *Z Kardiol*. 2005;94:399–404.
80. Becker JR, Chatterjee S, Robinson TY, Bennett JS, Panáková D, Galindo CL, et al. Differential activation of natriuretic peptide receptors modulates cardiomyocyte proliferation during development. *Development*. 2014;141:335–345.
81. D'Souza SP, Yellon DM, Martin C, Schulz R, Heusch G, Onody A, et al. B-type natriuretic peptide limits infarct size in rat isolated hearts via KATP channel opening. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2003;284:H1592–H1600.
82. Fiscus RR, Tu AW, Chew SB. Natriuretic peptides inhibit apoptosis and prolong the survival of serum-deprived PC12 cells. *Neuroreport*. 2001;12:185–189.
83. Sun Y, Zhang Y, Yan M, Wu Y, Zheng X. B-type natriuretic peptide-induced cardioprotection against reperfusion is associated with attenuation of mitochondrial permeability transition. *Biol Pharm Bull*. 2009;32:1545–1551.
84. Wang TN, Ge YK, Li JY, Zeng XX, Zheng XX. B-type natriuretic peptide enhances mild hypoxia-induced apoptotic cell death in cardiomyocytes. *Biol Pharm Bull*. 2007;30:1084–1090.
85. De Vito P, Incerpi S, Pedersen JZ, Luly P. Atrial natriuretic peptide and oxidative stress. *Peptides*. 2010;31:1412–1419.
86. Talha S, Bouitbir J, Charles AL, Zoll J, Goette-Di Marco P, Meziani F, et al. Pretreatment with brain natriuretic peptide reduces skeletal muscle mitochondrial dysfunction and oxidative stress after ischemia-reperfusion. *J Appl Physiol*. 2013;114:172–179.
87. Schlueter N, de Sterke A, Willmes DM, Spranger J, Jordan J, Birkenfeld AL. Metabolic actions of natriuretic peptides and therapeutic potential in the metabolic syndrome. *Pharmacol Ther*. 2014;144:12–27.
88. Sengenès C, Berlan M, De Glisezinski I, Lafontan M, Galitzky J. Natriuretic peptides: A new lipolytic pathway in human adipocytes. *FASEB J*. 2000;14:1345–1351.
89. Goharian TS, Goetze JP, Faber J, Andersen LB, Grøntved A, Jeppesen JL. Associations of proatrial natriuretic peptide with components of the metabolic syndrome in adolescents and young adults from the general population. *Am J Hypertens*. 2017;30:561–568.

90. American Heart Association. 2003. Heart and stroke statistical update. Dallas: American Heart Association.
91. Remme WJ, Swedberg K. Task Force for the Diagnosis and Treatment of Chronic Heart Failure, European Society of Cardiology. *Eur Heart J*. 2001;22:1527–1560.
92. McDonagh TA, Morrison CE, Lawrence A, Ford I, Tunstall-Pedoe H, McMurray JJ, Dargie HJ. Symptomatic and asymptomatic left-ventricular systolic dysfunction in an urban population. *Lancet*. 1997;350:829–833.
93. Stevenson LW, Perloff JK. The limited reliability of physical signs for estimating hemodynamics in chronic heart failure. *JAMA*. 1989;261:884–888.
94. Remes M, Miettinen H, Reunanen A, Pyorala K. Validity of clinical diagnosis of heart failure in primary health care. *Eur Heart J*. 1991;12:315–321.
95. Hunt SA, Baker DW, Chin MH, Cinquegrani MP, Feldman AM, Francis GS, Ganiats TG, Goldstein S, Gregoratos G, Jessup ML, Noble RJ, Packer M, Silver MA, Stevenson LW, Gibbons RJ, Antman EM, Alpert JS, Faxon DP, Fuster V, Jacobs AK, Hiratzka LF, Russell RO, Smith Jr SC. ACC/AHA guidelines for the evaluation and treatment of chronic heart failure in the adult. *Circulation*. 2001;104:2996–3007.
96. Richards AM, Cleland JG, Tonolo G, McIntyre GD, Leckie BJ, Dargie HJ, Ball SG, Robertson JL. Plasma natriuretic peptide in cardiac impairment. *Br Med J*. 1986;293:409–412.
97. Gottlieb SS, Kukin ML, Ahern D, Packer M. Prognostic importance of atrial natriuretic peptide in patients with chronic heart failure. *J Am Coll Cardiol*. 1989;13:1334–1339.
98. Swedberg K, Eneroth P, Kjekshus J, Wilhelmsen L. Hormones regulating cardiovascular function in patients with severe congestive heart failure and their relation to mortality. *Circulation*. 1990;82:1730–1736.
99. Lerman A, Gibbons RJ, Rodeheffer RJ, Bailey KB, McKinley LJ, Heublein DM, Burnett JC. Circulating N-terminal atrial natriuretic peptide as a marker for symptomless left-ventricular dysfunction. *Lancet*. 1993;341:1105–1109.
100. Rouleau JL, Packer M, Moye L, de Champlain D, Bichet D, Klein M, Rouleau J, Sussex B, Arnold MG, Sestier F, Parker JO, McEwan P, Bernstein V, Cuddy TE, Lamas GA, Gottlieb SS, McCans J, Nadeau C, Delage F, Wun CC, Pfeffer MA. Prognostic value of neurohumoral activation in patients with an acute myocardial infarction: effect of captopril. *J Am Coll Cardiol*. 1994;24:583–591.
101. Dao Q, Krishnaswamy P, Kazenegra R, Harrison A, Amirnovin R, Lenert L. Utility of B-type natriuretic peptide in the diagnosis of congestive heart failure in an urgent-care setting. *J Am Coll Cardiol*. 2001;37:379–385.
102. Cheng V, Kazenegra R, Garcia A, Lenert L, Krishnaswamy P, Gardetto N. A rapid bedside test for B-type peptide predicts treatment outcomes in

patients admitted for decompensated heart failure: a pilot study. *J Am Coll Cardiol.* 2001;37:386–391.

103. Kazanegra R, Cheng V, Garcia A, Krishnaswamy P, Gardetto N, Clopton P, Maisel A. A rapid test for B-type natriuretic peptide correlates with falling wedge pressures in patients treated for decompensated heart failure: a pilot study. *J Card Fail.* 2001;7:21–29.

104. Wiecezorek SJ, Hager D, Barry MB, Kearney L, Ferrier A, Wu AH. Correlation of B-type natriuretic peptide level to 6-min walk test performance in patients with left ventricular systolic dysfunction. *Clin Chim Acta.* 2003;328:87–90.

105. Kruger S, Graf J, Kunz D, Stickel T, Hanrath P, Janssens U. Brain natriuretic peptide levels predict functional capacity in patients with chronic heart failure. *J Am Coll Cardiol.* 2002;40:718–722.

106. Ishii J, Nomura M, Ito M, Naruse H, Mori Y, Wang JH, Ishikawa T, Kurokawa H, Kondo T, Nagamura Y, Ezaki K, Watanabe Y, Hishida H. Plasma concentration of brain natriuretic peptide as a biochemical marker for the evaluation of right ventricular overload and mortality in chronic respiratory disease. *Clin Chim Acta.* 2000;301:19–30.

107. Vasan RS, Benjamin EJ, Larson MG, Leip EP, Wang TJ, Wilson PW, Levy D. Plasma natriuretic peptides for community screening for left ventricular hypertrophy and systolic dysfunction. *JAMA.* 2002;288:1252–1259.

108. Redfield MM, Rodeheffer RJ, Jacobsen SJ, Mahoney DW, Bailey KR, Burnett Jr JC. Plasma brain natriuretic peptide concentration: impact of age and gender. *J Am Coll Cardiol.* 2002;40:976–982.

109. Nielsen OW, McDonagh TA, Robb SD, Dargie HJ. Retrospective analysis of the cost-effectiveness of using plasma brain natriuretic peptide in screening for left ventricular systolic dysfunction in the general population. *J Am Coll Cardiol.* 2003;41:113–120.

110. Maisel AS, Koon J, Krishnaswamy P, Kazanegra R, Clopton P, Gardetto N. Utility of B-natriuretic peptide as a rapid, point-of-care test for screening patients undergoing echocardiography to determine left ventricular dysfunction. *Am Heart J.* 2001;141:367–374.

111. McCullough PA, Nowak RM, McCord J, Hollander JE, Herrmann HC, Steg PG, Duc P, Westheim A, Omland T, Knudsen CW, Storrow AB, Abraham WT, Lamba S, Wu AH, Perez A, Clopton P, Krishnaswamy P, Kazanegra R, Maisel AS. B-type natriuretic peptide and clinical judgment in emergency diagnosis of heart failure: analysis from Breathing Not Properly (BNP) Multinational Study. *Circulation.* 2002;106:416–422.

112. Cowie MR, Struthers AD, Wood DA, Coats AJ, Thompson SG, Poole-Wilson PA, Sutton GC. Value of natriuretic peptides in assessment of patients with possible new heart failure in primary care. *Lancet.* 1997;350:1349–1353.

113. Maisel AS, Krishnaswamy P, Nowak RM, McCord J, Hollander JE, Duc P, Omland T, Storrow AB, Abraham WT, Wu AH, Clopton P, Steg PG, Westheim A, Knudsen CW, Perez A, Kazanegra R, Herrmann HC, McCullough PA. Rapid measurement of B-type natriuretic peptide in the emergency diagnosis of heart failure. *N Engl J Med.* 2002;347:161–167.
114. Morrison LK, Harrison A, Krishnaswamy P, Kazanegra R, Clopton P, Maisel A. Utility of a rapid B-natriuretic peptide assay in differentiating congestive heart failure from lung disease in patients presenting with dyspnea. *J Am Coll Cardiol.* 2002;39:202–209.
115. Kohno M, Horio T, Yokokawa K, Murakawa K, Yasunari K, Akioka K, Tahara A, Toda I, Takeuchi K, Kurihara N. Brain natriuretic peptide as a cardiac hormone in essential hypertension. *Am J Med.* 1992;92:29–34.
116. Nishikimi T, Yoshihara F, Morimoto A, Ishikawa K, Ishimitsu T, Saito Y, Kangawa K, Matsuo H, Omae T, Matsuoka H. Relationship between left ventricular geometry and natriuretic peptide levels in essential hypertension. *Hypertension.* 1996;28:22–30.
117. Talwar S, Siebenhofer A, Williams B, Ng L. Influence of hypertension, left ventricular hypertrophy, and left ventricular systolic dysfunction on plasma N terminal proBNP. *Heart.* 2000;83:278–282.
118. Lang CC, Prasad N, McAlpine HM, Macleod C, Lipworth BJ, MacDonald TM, Struthers AD. Increased plasma levels of brain natriuretic peptide in patients with isolated diastolic dysfunction. *Am Heart J.* 1994;127:1635–1636.
119. McGeoch G, Lainchbury J, Town GI, Toop L, Espiner E, Richards AM. Plasma brain natriuretic peptide after long-term treatment for heart failure in general practice. *Eur J Heart Fail.* 2002;4:479–483.