

Received: 2014.10.26
Accepted: 2015.02.05
Published: 2015.04.09

Struktura, regulacja oraz funkcje błonowej cyklazy guanylanowej typu A*

Structure, regulation and functions of particulate guanylyl cyclase type A

Małgorzata Mitkiewicz

Laboratorium Białek Sygnałowych, Instytut Immunologii i Terapii Doświadczalnej PAN im. L. Hirszfelda we Wrocławiu

Streszczenie

Cyklaza guanylanowa typu A (GC-A) należy do rodziny błonowych cyklaz guanylanowych (pGC), które, podobnie jak cytosolowe cyklazy guanylanowe (sGC), katalizują reakcję syntezy jednego z podstawowych drugorzędowych przekaźników sygnału, jakim jest cykliczny GMP (cGMP), regulujący wiele różnych procesów komórkowych. Mimo że obie postaci GC wytwarzają ten sam wtórny przekaźnik sygnału, to jednak aktywacja każdej z nich uruchamia odmienne szlaki sygnałowe, prowadzące do różnych wyników procesów komórkowych. Wynika z tego, że o ostatecznym efekcie cGMP decyduje miejsce jego syntezy w komórce (cytosol lub błona komórkowa). Błonowa cyklaza guanylanowa typu A jest białkiem homodimerskim, aktywowanym w wyniku wiązania uwolnionych do krwiobiegu peptydów natriuretycznych (ANP – przedsionkowy peptyd natriuretyczny i BNP – mózgowy peptyd natriuretyczny) w części zewnątrzkomórkowej enzymu. Powszechna ekspresja GC-A w różnych typach komórek i tkanek wskazuje, że białko to może regulować wiele procesów zachodzących w organizmie. Poza, najdokładniej udokumentowaną w literaturze, rolę GC-A w układzie sercowo-naczyniowym zaobserwowano, że białko to uczestniczy również m.in. w procesie nowotworzenia i jest zaangażowane w regulację reakcji zapalnej.

W pracy przedstawiono najważniejsze informacje dotyczące budowy, funkcji oraz regulacji aktywności katalitycznej GC-A, a także regulacji ekspresji genu kodującego ten enzym.

Słowa kluczowe:

cykliczny GMP • cyklazy guanylanowe • błonowa cyklaza guanylanowa typu A • regulacja aktywności katalitycznej oraz ekspresji GC-A • funkcje fizjologiczne GC-A

Summary

Guanylyl cyclase type A (GC-A) belongs to the particulate guanylyl cyclases (pGC), which, like the soluble guanylyl cyclases (sGC), catalyze the synthesis of a common secondary messenger, namely cyclic GMP (cGMP), involved in many cellular processes. Although both forms of guanylyl cyclases produce the same secondary messenger, activation of each of them triggers different signaling pathways leading to different cellular effects. This indicates that the final effect of cGMP depends on the site of its synthesis in the cell (cytosol or cell membrane). Particulate guanylyl cyclase type A is a homodimeric protein activated by natriuretic peptides

* Praca została sfinansowana ze środków Narodowego Centrum Nauki przyznanych na podstawie decyzji numer DEC-2011/01/D/NZ3/04249.

	(ANP – atrial natriuretic peptide and BNP – brain natriuretic peptide) binding in the extra-cellular domain of the enzyme. The widespread expression of GC-A in different cell types and tissues suggests that this protein may regulate many cellular processes. Besides the role of GC-A in the cardiovascular system, which is the most thoroughly documented in the literature, it was observed that this protein is also involved in carcinogenesis and regulation of inflammatory reactions. This review describes important information about the structure, functions and regulation of GC-A catalytic activity, and the regulation of GC-A gene expression.
Key words:	cyclic GMP • guanylyl cyclases • particulate guanylyl cyclase type A • regulation of GC-A catalytic activity and expression • physiological functions of GC-A
Full-text PDF:	http://www.phmd.pl/fulltxt.php?ICID=1148746
Word count:	4462
Tables:	1
Figures:	4
References:	102

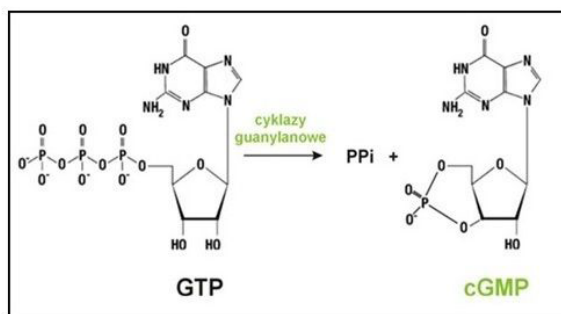
Adres autorki: dr inż. Małgorzata Mitkiewicz, Laboratorium Białek Sygnałowych, Instytut Immunologii i Terapii Doświadczalnej PAN im. Ludwika Hirszfelda, ul Weigla 12, 53-114 Wrocław; e-mail: ciuman@iitd.pan.wroc.pl

Wykaz skrótów: **ANF** – przedsionkowy czynnik natriuretyczny (atrial natriuretic factor), **ANP** – przedsionkowy peptyd natriuretyczny (atrial natriuretic peptide), **ATP** – adenosyno-5'-trifosforan, **ATRA** – kwas all-trans retinowy, **BNP** – mózgowy peptyd natriuretyczny (brain natriuretic peptide), **CD** – domena katalityczna (catalytic domain), **CNP** – peptyd natriuretyczny typu C (C-type natriuretic peptide), **cGMP** – cykliczny 3',5'-guanozynomonofosforan, **cGMP-RE** – sekwencja rozpoznawana przez cGMP (cGMP-response element), **CO** – tlenek węgla, **DD** – domena dimeryzacyjna (dimerization domain), **ECD** – domena zewnątrzkomórkowa (extracellular domain), **GC** – cyklaza guanylanowa (guanylyl cyclase), **GC-A** + **GC-G** – błonowa cyklaza guanylanowa typu A÷G, **GCAP** – białko aktywujące cyklazę guanylanową (guanylyl cyclase activating protein), **GREBP** – białko wiążące się do cGMP-RE (cGMP response element binding protein), **GTP** – guanozyno-5'-trifosforan, **IL-1β** – interleukina 1β, **IL-6** – interleukina 6, **KHD** – domena kinazopodobna (kinase homology domain), **NF-Y** – czynnik transkrypcyjny NF-Y (nuclear factor Y), **NO** – tlenek azotu, **NPR-C** – receptor klirensowy (natriuretic peptide clearance receptor), **pGC** – błonowa cyklaza guanylanowa (particulate guanylyl cyclase), **sGC** – rozpuszczalna cyklaza guanylanowa (soluble guanylyl cyclase), **RAA** – układ renina-angiotensyna-aldosteron, **Sp1** – czynnik transkrypcyjny Sp1 (specificity protein 1), **Sta** – termostabilna enterotoksyna, **TMD** – domena transbłonowa (transmembrane domain), **TNF-α** – czynnik martwicy nowotworu α.

WSTĘP

Cykliczny 3',5'-guanozynomonofosforan (cGMP) jest jednym z podstawowych wtórnych przekazywaczy sygnału w komórce i jest ważnym regulatorem wielu procesów komórkowych. Pełni istotną rolę w funkcjonowaniu narządu wzroku, pracy mięśnia sercowego, regulacji funkcji nerek czy agregacji płytek krwi [19,52]. Uczestniczy również w procesach różnicowania komórek, w apoptozie i w regulacji procesów odpornościowych [9,26,56,58,69,70,80,91]. Cykliczny GMP został po raz pierwszy zidentyfikowany w moczu szczura w 1963 r. [1], natomiast enzymy katalizujące reakcję jego syntezy (cyklazy guanylanowe, GC) zostały odkryte przez trzy niezależne zespoły badawcze sześć lat później [22,77,96]. Cyklazy guanylanowe (EC 4.6.1.2.) w warunkach fizjologicznych, w obecności jonów magnezowych lub manganowych, konwertują GTP do cGMP z uwolnieniem pirofosforanu (ryc. 1).

W zależności od umiejscowienia w komórce cyklazy guanylanowe podzielono na dwie grupy: rozpuszczalne (sGC) znajdujące się w cytosolu oraz błonowe (pGC), związane z błoną komórkową [7,30]. Obydwa typy GC różnią się



Ryc. 1. Synteza cyklicznego GMP

Tabela 1. Rodzina cyklaz guanylanowych

Cyklaza guanylanowa	Aktywatory	Umiejscowienie genu w chromosomie	Ekspresja tkankowa
sGC	NO, CO	(a1) 4q31.3-q33 (a2) 11q21-q22 (b1) 4q31.3-q33 (b2) 13q14.3	płuca, nerki, wątroba, mózg, serce, mięśnie szkieletowe, płytki krwi, monocyty, makrofagi, neutrofile
GC-A	ANP, BNP	1q21-q22	płuca, nerki, nadnercze, śródbłonek, wątroba, grasic, mózg, serce, komórki układu odpornościowego
GC-B	CNP	9p12-p21	serce, mózg, grasic, mięśnie gładkie, siatkówka, fibroblasty
GC-C	STa, guanylina, uroguanylina	12p12	jelito, mózg, płuca, nerki, śledziona, węzły chłonne, grasic, nadnercze
GC-D	CO ₂ /HCO ₃ ⁻	11p15.4 lub 11q13-q14.1	komórki węchowe
GC-E	Ca ²⁺ / GCAP	17p13.1	siatkówka, szyszynka
GC-F	Ca ²⁺ / GCAP	Xq22	siatkówka
GC-G	CO ₂ /HCO ₃ ⁻	10q24-q26c	mięśnie szkieletowe, płuca, jelito, nerki

także między sobą budową oraz mechanizmami regulacji aktywności katalitycznej. Mimo że obie postaci GC wytwarzają ten sam przekaźnik drugorzędowy, to prawdopodobnie funkcje wewnątrzkomórkowe sGC i pGC są całkowicie odmienne, ponieważ aktywacja każdej z nich powoduje uruchomienie innych szlaków sygnałowych [56,82].

Ponadto, mimo że badania nad cyklazami guanylanowymi rozpoczęto w połowie lat siedemdziesiątych XX w. [7,16,30], to jednak dopiero ponad dziesięć lat później, dzięki rozwojowi technik klonowania molekularnego, możliwe było pełne poznanie i zidentyfikowanie poszczególnych członków rodziny GC (tabela 1). Stwierdzono wówczas, że rozpuszczalne cyklazy guanylanowe są hemoproteinami zbudowanymi z dwóch łańcuchów polipeptydowych – podjednostki α (73–82 kDa) i β (70–74 kDa) [27]. Dotychczas zidentyfikowano po dwie izoformy dla każdej podjednostki (α_1 , α_2 oraz β_1 , β_2) [15,33,101]. Jednak tylko $\alpha_1\beta_1$ oraz $\alpha_2\beta_1$ pełnią rolę funkcjonalnych heterodimerów [75]. Najsilniejszym endogennym aktywatorem sGC jest tlenek azotu, który wiążąc się z hemową grupą prostetyczną enzymu powoduje nawet 200-krotny wzrost aktywności cyklazy [34,81].

W odróżnieniu od sGC, błonowe cyklazy guanylanowe są homodimerami łańcuchów polipeptydowych przebijających błonę komórkową. Jest to rodzina złożona z siedmiu izoform (GC-A+GC-G), różniących się między sobą strukturą pierwszorzędową oraz mechanizmami regulacji aktywności enzymatycznej. Z analizy sekwencji aminokwasowych wynika, że wszystkie izoformy pGC mają podobną strukturę, w której wyróżnić można zewnątrzkomórkową domenę N-kończową, domenę transbłonową, regulatorową

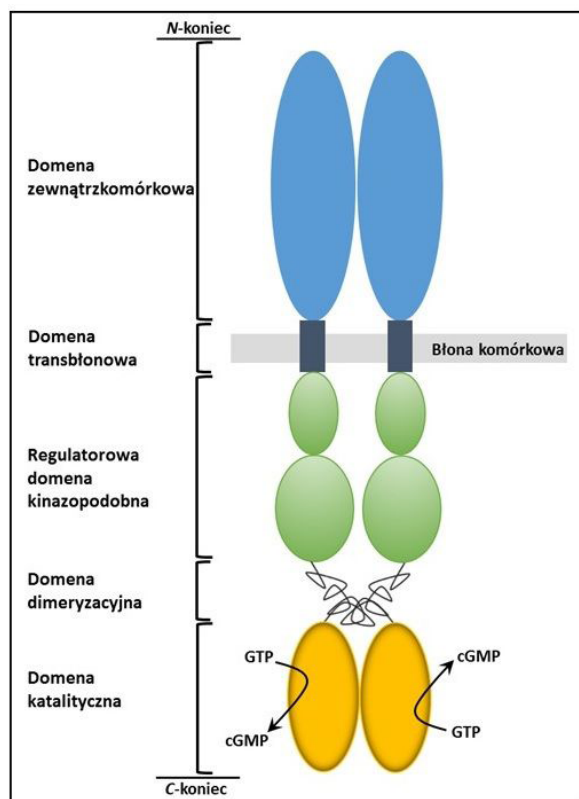
domenę kinazopodobną, domenę dimeryzacyjną oraz C-kończową domenę katalityczną [52]. Cyklazy guanylanowe typu A i B są receptorami peptydów natriuretycznych (ANP – przedsionkowy peptyd natriuretyczny, BNP – mózgowy peptyd natriuretyczny, CNP – peptyd natriuretyczny typu C). GC-C wiąże termostabilną enterotoksynę (STa) oraz peptydy jelitowe. Aktywność GC-E i GC-F jest regulowana przez cytosolowe białka wiążące wapń (GCAP). Prace z ostatnich lat wskazują natomiast, że GC-D i GC-G mogą być aktywowane przez dwutlenek węgla i wodorowęglan [5,20,84]. Są również doniesienia świadczące o tym, że GC-D i GC-G są u ludzi pseudogenami [71].

CHARAKTERYSTYKA BŁONOWEJ CYKLAZY GUANYLANOWEJ TYPU A

Budowa domenowa GC-A

Pierwszą sklonowaną izoformą błonowych cyklaz guanylanowych była GC-A (określana również jako NPR-A lub NPR1) o masie cząsteczkowej 135 kDa [6,49]. Struktura GC-A, tak jak struktura wszystkich dotychczas opisanych izoform błonowych GC, dzieli się na zewnątrzkomórkową domenę N-kończową (ECD, extracellular domain), krótką domenę transbłonową (TMD, transmembrane domain), regulatorową domenę kinazopodobną (KHD, kinase homology domain), domenę dimeryzacyjną (DD, dimerization domain) oraz najbardziej konserwatywną C-kończową domenę katalityczną (CD, catalytic domain) [52] (ryc. 2).

Porównując budowę genów kodujących poszczególne izoformy błonowych GC zauważono, że najmniejsza homologia (15-40%) występuje w części kodującej domenę zewnątrzkomórkową. Różnorodność w strukturze tej części



Ryc. 2. Budowa domenowa cyklazy guanylanowej typu A (wg [74], zmodyfikowano)

enzymu jest prawdopodobnie bardzo zdeterminowana jej funkcją, jaką jest rozpoznawanie i wiązanie liganda. Największe podobieństwo występuje między domenami ECD cyklaz guanylanowych typu A i B. Domena zewnątrzkomórkowa GC-A składa się z około 450 reszt aminokwasowych i wiąże się z częścią wewnątrzkomórkową za pośrednictwem krótkiej (20-25 hydrofobowych reszt aminokwasowych) domeny transbłonowej. Sygnał aktywacyjny jest przenoszony z domeny zewnątrzkomórkowej do domeny katalitycznej za pośrednictwem domeny kinazopodobnej. Domena KHD cyklazy guanylanowej A jest zbudowana z 280 reszt aminokwasowych i jest prawie w 30% homologiczna z domenami kinazowymi w kinazach białkowych. Mimo podobieństwa strukturalnego KHD nie wykazuje aktywności kinazowej. Z danych literaturowych wynika, że mutanty GC-A pozbawione domeny kinazopodobnej przejawiają dużą aktywność enzymatyczną, niezależną od obecności liganda peptydowego. Obserwacje te sugerują, że przy braku aktywatora domena KHD działa jako negatywny regulator aktywności enzymu [52,67,73,74]. Domena regulatorowa jest połączona z domeną katalityczną odcinkiem obejmującym około 40 reszt aminokwasowych określanych domeną dimeryzacyjną lub regionem zawiasowym. Wyniki badań, w których wykorzystano mutanty GC-A z delecją domeny DD wykazały, że fragment ten jest niezbędny do dimeryzacji receptora i jego aktywności katalitycznej [52,55,73]. C-końcowym odcinkiem GC-A jest, złożona z 250 reszt aminokwasowych, domena katalityczna. Wszystkie cyklazy

guanylanowe (a także cyklazy adenylanowe) wykazują duże podobieństwo strukturalne w obrębie tej domeny. Jak wykazano, do uzyskania funkcjonalnego receptora GC-A niezbędne jest wzajemne oddziaływanie fragmentów katalitycznych pochodzących z dwóch odrębnych łańcuchów polipeptydowych, które umożliwia utworzenie dwóch centrów aktywnych wiążących substrat. Oznacza to, że GC-A jest zdolna do syntezy cGMP jedynie w postaci dimerycznej, ponieważ miejsca katalityczne powstają przez wzajemne „uzupełnianie się” monomerów [52,67]. W homodimerycznych cyklazach (takich jak GC-A) centrum aktywne tworzą trzy reszty aminokwasowe: kwas asparaginowy, który dostarcza jeden monomer oraz para asparagina/arginina, pochodząca z drugiego monomeru [52].

Ekspresja tkankowa GC-A

Obecność genu kodującego GC-A zaobserwowano w wielu typach komórek i tkanek. Bardzo silna ekspresja genu dla tego enzymu zachodzi m.in. w płucach, nerkach, nadnerczach, śródbłonku, mózgu, wątrobie oraz w tkance tłuszczowej. Na niższym, ale również istotnym poziomie cyklaza ta jest wytwarzana w sercu [73]. Obecność GC-A wykazano także w różnych typach komórek układu odpornościowego, m.in. w tymocytach, makrofagach czy granulocytach [8,32,45]. Powszechna ekspresja enzymu w tak różnych populacjach komórek sugeruje, że błonowa cyklaza guanylanowa typu A może wpływać na wiele procesów zachodzących w organizmie. Aktywność GC-A w wymienionych komórkach jest indukowana wiązaniem peptydów natriuretycznych (ANP i BNP) w domenie zewnątrzkomórkowej enzymu.

Ligandy błonowej cyklazy guanylanowej typu A

Rodzinę ssących peptydów natriuretycznych (NP, natriuretic peptides) stanowią trzy strukturalnie podobne hormony obejmujące przedsionkowy peptyd natriuretyczny (ANP, atrial natriuretic peptide), mózgowy peptyd natriuretyczny (BNP, brain natriuretic peptide) oraz wytwarzany w komórkach śródbłonka peptyd natriuretyczny typu C (CNP, C-type natriuretic peptide). Błonowa cyklaza guanylanowa typu A wykazuje duże powinowactwo zarówno do ANP, jak i do BNP.

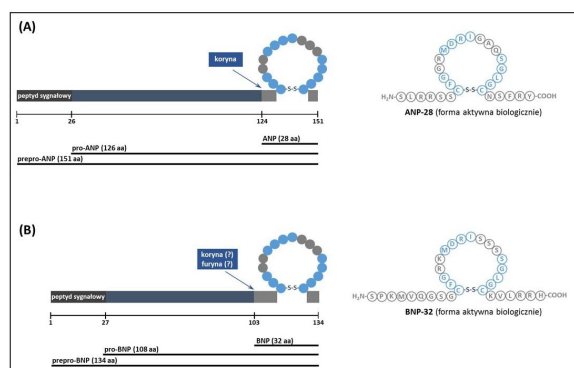
Przedsionkowy peptyd natriuretyczny jest syntetyzowany głównie w kardiomiocytach przedsionka serca, skąd pod wpływem bodźców mechanicznych, zostaje uwolniony do krwiobiegu. Czynnikiem ten po raz pierwszy opisali de Bold i wsp. w 1981 r. [11]. Badacze zaobserwowali wówczas, że dożylne podanie szczurom homogenatu uzyskanego z tkanki przedsionków serca powoduje gwałtowne obniżenie ciśnienia krwi oraz wpływa na wzrost wydzielania sodu (natriureza) i wody (diureza) z nerek. W następnych latach innym zespołom badawczym udało się wyizolować z tkanki przedsionków peptydy różnej wielkości, mające właściwości natriuretyczne, diuretyczne oraz rozluźniające mięśnie gładkie [10,14,28,54]. Peptydom tym nadawano różne nazwy, takie jak przedsionkowy

czynnik natriuretyczny (ANF, atrial natriuretic factor), kardiodilatyna, atriopertyna czy przedsionkowy peptyd natriuretyczny (ANP), który jest obecnie najczęściej używanym terminem. W 1984 r. wykazano, że ANP wpływa na wzrost stężenia cyklicznego GMP w tkankach szczura oraz w pierwotnych hodowlach komórek kanalików nerkowych [21]. W tym samym roku zaobserwowano również, że peptyd ten aktywuje jedynie błonową cyklastę guanylanową, nie wpływa natomiast na aktywność rozpuszczalnej cykazy guanylanowej [92,97].

Mózgowy peptyd natriuretyczny (nazywany również peptydem natriuretycznym typu B), mający właściwości podobne do ANP, po raz pierwszy wyodrębniono z ekstraktów mózgu wieprzowego w 1988 r. [83]. Obecnie wiadomo jednak, że głównym miejscem jego syntezy są miocyty komór serca.

Peptydy natriuretyczne ANP i BNP zawierają w swojej strukturze wiązanie dwusiarczkowe, tworzące 17-aminokwasową pętlę z bardzo konserwatywną sekwencją CFGXXMDRXXXXSGLGC (X – dowolny aminokwas) (ryc. 3). Struktura ta odpowiada za wiązanie receptora i aktywność biologiczną peptydów. Peptydy natriuretyczne są syntetyzowane w postaci preprohormonów, które następnie ulegają obróbce proteolitycznej, a w jej wyniku zostają uwolnione fragmenty C-końcowe wykazujące aktywność biologiczną. Jak się okazało, ludzkie geny kodujące polipeptydowe prekursor ANP i BNP (NPPA – natriuretic peptide precursor A oraz NPPB – natriuretic peptide precursor B) są zorganizowane w tandem. Gen *NPPA* jest umiejscowiony w ludzkim chromosomie 1p36.2 i składa się z trzech eksonów rozdzielonych dwoma intronami. Natomiast gen *NPPB*, obejmujący dwa eksony i intron, umiejscowiony jest około 8 kb powyżej *NPPA* [37,74]. Gen *NPPA* koduje prepro-ANP złożony ze 151 aminokwasów. Ta postać ulega następnie proteolizie, w wyniku której usunięty zostaje N-końcowy peptyd sygnałowy i powstaje pro-ANP zbudowany ze 126 reszt aminokwasowych. Po wydzieleniu do krwiobiegu z prohormonu, w wyniku działania transbłonowej proteazy serynowej – koryny, zostaje uwolniona 28-aminokwasowa, aktywna biologicznie, pierścieniowa postać ANP [99] (ryc. 3). W przypadku BNP, jego postać prekursorowa (prepro-BNP) jest zbudowana ze 134 reszt aminokwasowych. Po odcięciu N-końcowej sekwencji sygnałowej powstaje 108-aminokwasowy polipeptyd pro-BNP. Dalsza proteoliza prowadzi do utworzenia biologicznie aktywnego BNP, złożonego z 32 reszt aminokwasowych (ryc. 3). Dane literaturowe dotyczące obróbki proteolitycznej pro-BNP są sprzeczne. Jedne opowiadają się za udziałem koryny w tym procesie (podobnie jak w przypadku ANP) [25,94]. Z innych doniesień wynika natomiast, że w utworzenie aktywnego BNP jest zaangażowana inna proteaza serynowa – furyna [78,90].

Okres półtrwania peptydów natriuretycznych w organizmie wynosi 2-20 min. Po tym czasie peptydy są usuwane z krwiobiegu przez enzymatyczną degradację z udziałem obojętnej endopeptydazy (NEP, neutral endopeptidase)



Ryc. 3. Budowa i schemat obróbki proteolitycznej przedsionkowego (A) i mózgowego (B) peptydu natriuretycznego. Peptydy są syntetyzowane w postaci preprohormonów, z których, w wyniku proteolizy są uwalniane C-końcowe fragmenty, stanowiące dojrzałe postaci peptydów (ANP-28 oraz BNP-32). ANP i BNP zawierają w swojej strukturze wiązanie dwusiarczkowe, tworzące 17-aminokwasowy pierścień z wysoce konserwatywną sekwencją aminokwasową (niezmienne aminokwasy zaznaczono na niebiesko). Struktura pierścienia odpowiada za aktywność biologiczną peptydów. Koryna, furyna – proteazy serynowe; podano sekwencje aminokwasowe peptydów ludzkich

lub komórkową internalizację i degradację z udziałem swoistego receptora klirensowego (NPR-C, natriuretic peptide clearance receptor) lub, w niewielkim stopniu, są wydalone z płynami ustrojowymi, moczem i żółcią [72].

Peptydy natriuretyczne ANP i BNP działają biologicznie przez oddziaływanie z transbłonowym receptorem GC-A.

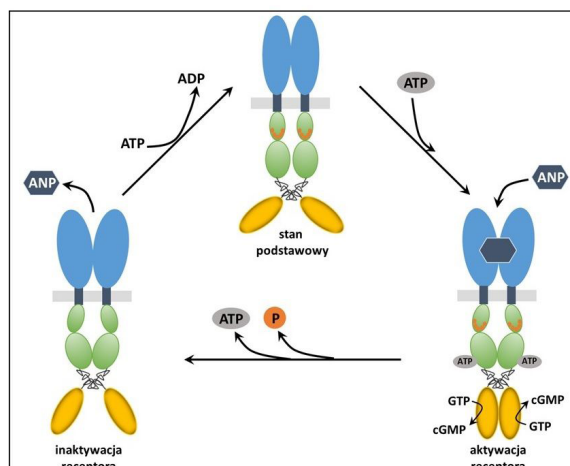
REGULACJA AKTYWNOŚCI KATALITYCZNEJ GC-A

Cyklasta guanylanowa typu A wykazuje aktywność katalityczną jedynie w postaci dimerycznej, ponieważ oddziaływanie dwóch łańcuchów polipeptydowych umożliwia utworzenie miejsc wiążących substrat. Za dimeryzację podjednostek katalitycznych enzymu odpowiada domena dimeryzacyjna. Wykazano, że poza wpływem na część katalityczną enzymu, domena dimeryzacyjna bierze także udział w dimeryzacji pełnego białka, ponieważ mutanty GC-A pozbawione części cytoplazmatycznej nie są zdolne do tworzenia oligomerów [52,73]. Oddziaływanie między monomerami jest dodatkowo stabilizowane przez dimeryzację domen zewnątrzkomórkowych, które tworzą dimery w wyniku wzajemnego oddziaływania czterech równoległych odcinków α -helikalnych ułożonych dwójkami. W rezultacie dochodzi do zbliżenia wcześniej oddalonych od siebie C-końcowych fragmentów domen ECD. Trzeciorzędowa struktura domeny zewnątrzkomórkowej GC-A szczura jest stabilizowana przez trzy wewnętrzłańcuchowe wiązania dwusiarczkowe utworzone między resztami Cys-60/Cys-86, Cys-164/Cys-215 oraz Cys-423/Cys-432. Obecność wymienionych wiązań jest konieczna zarówno do oligomeryzacji receptora, jak i wiązania liganda [55,74]. Domena ECD cykazy guanylanowej typu A zawiera również kilka miejsc N-glikozylacji. Jednak znaczenie tego procesu w regulacji aktywności GC-A budzi spore kontrowersje wymagające wyjaśnienia. W bada-

niach przeprowadzonych na ludzkich embrionalnych komórkach nerkowych (HEK 293) stabilnie transfekowanych GC-A wykazano, że glikozylowany enzym swoiście wiąże ANP. Natomiast usunięcie reszt cukrowych z użyciem endoglikozydazy całkowicie znosi to oddziaływanie [50]. Potwierdzają to inne doniesienia, z których wynika, że tylko w pełni glikozylowana GC-A może wiązać ANP [36]. Jednak dane innych badaczy zaprzeczają tej hipotezie. Wykazano między innymi, że zastosowanie inhibitora glikozylacji (tunikamycyny) nie wpływa na wiązanie przedsionkowego peptydu natriuretycznego do GC-A w komórkach glejaka szczura [23]. Inny zespół badawczy zaobserwował natomiast, że w czasie rozwoju płodowego mózgu szczura powstają różne glikoformy GC-A (dochodzi do zmiany stopnia glikozylacji receptora). Nie stwierdzono jednak aby miało to wpływ na zdolność wiązania liganda i aktywność katalityczną enzymu [60]. Doniesienia te pozostają w zgodzie z danymi uzyskanymi przez Miyagi i wsp. [57], którzy w badaniach przeprowadzonych na rekombinowanych receptorach GC-A wskazali, że struktury oligosacharydowe w części zewnątrzkomórkowej enzymu nie są wymagane do wiązania hormonów peptydowych. Sprzeczne obserwacje dotyczące znaczenia procesu glikozylacji w regulacji aktywności GC-A mogą sugerować, że reszty cukrowe w domenie zewnątrzkomórkowej tego białka nie są bezpośrednio zaangażowane w oddziaływanie z ligandem. Ich funkcja może być raczej związana z uzyskaniem przez ECD takiej konformacji przestrzennej, która umożliwia przeniesienie sygnału do części cytosolowej enzymu i indukcję jego aktywności katalitycznej [55]. W domenie ECD, w pobliżu miejsca wiążącego peptyd natriuretyczny, jest obecne również miejsce wiązania dla jonów chlorkowych. Jak wykazano obecność chlorku jest niezbędna do oddziaływania receptora z ligandem [65].

GC-A w stanie podstawowym (bez związanego liganda) występuje w postaci ufosforylowanej. Dotychczas zidentyfikowano siedem miejsc fosforylacji na resztach seryny i treoniny w N-końcowej części domeny kinazopodobnej GC-A szczura (Ser-487, Ser-497, Thr-500, Ser-502, Ser-506, Ser-510, Thr-513). Pięć spośród tych miejsc (z wyjątkiem Ser-510 i Thr-513) zidentyfikowano także w receptorze ludzkim [76,100]. Jak wskazano, fosforylacja jest procesem niezbędnym do aktywacji GC-A przez peptyd natriuretyczny, ponieważ mutacje w obrębie co najmniej czterech miejsc fosforylacji (podstawienie tych reszt aminokwasowych przez alaninę) sprawiają, że receptor nie wykazuje wrażliwości na aktywację ligandem [73].

ANP przyłącza się do ufosforylowanego receptora w stosunku stechiometrycznym 1:2. Oddziaływanie z ligandem powoduje rotację przyblonowych regionów zewnątrzkomórkowej części każdego monomeru (zbliżają się do siebie), co indukuje wewnątrzcząsteczkową zmianę konformacyjną umożliwiającą przestrzenne uformowanie dwóch miejsc katalitycznych i rozpoczęcie syntezy cGMP [64,73] (ryc. 4). Jednak jak dotąd dokładny mechanizm przekazywania sygnału z domeny zewnątrzkomórkowej do części katalitycznej białka nie został poznany. Wiadomo, że do maksymalnej aktywacji receptora GC-A jest wy-



Ryc. 4. Model regulacji aktywności katalitycznej cyklazy guanylanowej typu A. Enzym w stanie podstawowym (postać ufosforylowana) wiąże ligand (ANP), co umożliwia mu związanie ATP w domenie kinazopodobnej. Oddziaływanie z ANP oraz ATP powoduje zmianę konformacyjną enzymu, w wyniku czego powstają dwa miejsca katalityczne i indukowana jest konwersja GTP do cGMP. Następnie defosforylacja reszt w domenie kinazopodobnej oraz dysocjacja ATP hamują aktywność cyklazową enzymu. Oddysocjowanie liganda oraz ponowna fosforylacja powodują powrót GC-A do stanu podstawowego (wg [74], zmodyfikowano)

magana także obecność ATP w roli kofaktora, który wiąże się do enzymu w rejonie domeny kinazopodobnej [64].

Zmiany konformacyjne, zachodzące po związaniu liganda i ATP, sprawiają, że ufosforylowane reszty seryny i treoniny w rejonie KHD zostają wyeksponowane na zewnątrz, co zapewnia dostęp i umożliwia działanie swoistym fosfatazom białkowym. Defosforylacja reszt aminokwasowych, a także dysocjacja cząsteczek ATP i liganda wpływają na osłabienie aktywności GC-A, co określa się jako desensytyzację (odczulenie) receptora. Po inaktywacji enzym uzyskuje konformację umożliwiającą ponowną fosforylację i wiązanie liganda. Mimo że udział fosforylacji i defosforylacji w regulacji aktywności katalitycznej GC-A został dokładnie opisany, to jednak nie udało się jeszcze zidentyfikować kinaz i fosfataz białkowych odpowiedzialnych za te procesy [73,76].

Możliwe, że w desensytyzacji GC-A w odpowiedzi na ANP pośredniczy proces internalizacji i metabolicznej degradacji receptora [67]. Jednak w przypadku cyklazy guanylanowej typu A proces ten budzi pewne kontrowersje. Niektóre grupy badawcze twierdzą, że GC-A jest makrocząsteczką podlegającą dynamicznemu pobieraniu do cytoplazmy w wyniku endocytozy [67]. Pandey i wsp. w badaniach przeprowadzonych na komórkach Leydiga (mysia linia komórkowa MA-10) z dużą endogenną ekspresją GC-A oraz na komórkach COS-7 (małpie fibroblasty) i HEK 293 (ludzkie embrionalne komórki nerkowe) z nadekspresją receptora GC-A wykazali, że po związaniu ANP do cyklazy dochodzi do internalizacji kompleksu ligand-receptor do struktur wewnątrzkomórkowych [66]. Po endocytozie część kompleksu ulega degradacji proteolitycznej w lizosomach, natomiast część receptora oddysocjuje od liganda i powraca na powierzchnię błony komór-

kowej. Badacze wykazali również, że proces internalizacji receptora kierowany jest przez krótką sekwencję aminokwasową umiejscowioną w C-końcowej części GC-A (GDAY; Gly-920/Asp-921/Ala-922/Tyr-923). Głównymi elementami w tym tetrapeptydzie, odpowiedzialnymi za internalizację receptora, są Gly-920 i Tyr-923, ponieważ zastąpienie tych aminokwasów alaniną znosi badany proces [66,68]. Inny zespół wykazał, że w czasie wydłużonej ekspozycji komórek bAEC (komórki śródbłonna aorty wołu) i HeLa (ludzka linia komórek raka szyjki macicy) na ANP dochodzi w nich do degradacji endogennej GC-A. Obecność cykloheksymidu, hamującego syntezę białek *de novo*, sugeruje, że obniżenie poziomu receptora jest wynikiem jego zwiększonej degradacji, a nie zredukowanej syntezy [13]. W przeciwieństwie do powyższych doniesień inni autorzy podają, że GC-A jest białkiem błonowym, które nie ulega endocytozie i nie pośredniczy w lizosomalnej degradacji ANP [35].

Ze względu na rozbieżne wyniki badań dotyczących regulacji aktywności GC-A w odpowiedzi na ligand, internalizacji i degradacji receptora mechanizmy odpowiedzialne za te procesy wymagają jeszcze wyjaśnienia.

REGULACJA EKSPRESJI GENU KODUJĄCEGO GC-A

Mimo że badania nad cyklazami guanylanowymi trwają już ponad trzydzieści lat to jednak, ze względu na niewielką liczbę prac dotyczących molekularnego mechanizmu regulacji ekspresji GC-A, proces ten do dzisiaj nie został dokładnie poznany. Organizacja struktury genu kodującego GC-A jest znana i jest w zasadzie taka sama w obrębie różnych gatunków. Gen ten jest zbudowany z około 16,5-17,5 tysięcy par zasad i składa się z 22 eksonów rozdzielonych 21 intronami. Eksony 1-6, 8-15 oraz 17-22 kodują odpowiednio zewnątrzkomórkową, kinazopodobną oraz katalityczną domenę enzymu. Ekson 7 odpowiada za domenę transbłonową, natomiast ekson 16 za region zawiasowy cykazy [55]. Gen kodujący ludzką GC-A jest umiejscowiony w chromosomie 1q21-q22. Zarówno pod względem wielkości, jak i struktury gen dla GC-A jest podobny do genu kodującego błonową cyklazę guanylanową typu B [51,85,98].

Większość genów eukariotycznych charakteryzuje się obecnością sekwencji TATA około 20-30 par zasad powyżej miejsca startu transkrypcji. Jednak w przypadku genu kodującego GC-A nie stwierdzono obecności tej kasety w jego regionie promotorowym [47]. Analiza regionu regulatorowego 5' genu dla GC-A (około 1,8-2,3 tysięcy par zasad przed sekwencją kodującą) wykazała natomiast, że jest on bogaty w pary GC, które stanowią około 64% wszystkich par zasad. Zawiera również trzy potencjalne miejsca wiążące czynnik transkrypcyjny Sp1 (GGGCGG lub CCGCCC), umiejscowione między pozycją - 341 a - 50 [17,61,98], co sugeruje, że Sp1 może być zaangażowany w regulację ekspresji genu dla GC-A. I rzeczywiście wykazano, że aktywność Sp1 jest kluczowa dla ekspresji tego enzymu. Liang i wsp. w badaniach przeprowadzonych na komórkach mięśni gładkich aorty szczura (RASMC, rat aortic smooth muscle cells) zaobserwowali, że mutacje w jednym z trzech miejsc wiążących Sp1 redukują aktywność promotora genu dla GC-A o około 50-75%, na-

tomiast jednoczesna mutacja w regionie promotorowym genu dla GC-A wszystkich tych miejsc hamuje transkrypcję genu w 90% [47,48].

Wiadomo, że w regionie promotorowym genu dla GC-A jest obecny również odwrócony motyw CCAAT [52]. Sekwencja CCAAT ma znaczenie w regulacji transkrypcji wielu genów i może działać w dwóch orientacjach. Motyw ten wiąże czynnik transkrypcyjny NF-Y (nuclear factor Y), określane również jako CBF (CCAAT-binding factor), który występuje w postaci funkcjonalnego kompleksu trzech podjednostek: NF-YA, NF-YB i NF-YC [12]. Jak wykazano, mutacje w obrębie sekwencji CCAAT (umiejscowionej 137 par zasad przed sekwencją kodującą) skutkują 90% spadkiem aktywności promotora genu dla GC-A w komórkach RASM [47]. Zaobserwowano ponadto, że jednoczesne mutacje w rejonie miejsc wiązania zarówno czynnik transkrypcyjny Sp1, jak i NF-Y powodują całkowitą blokadę transkrypcji genu kodującego GC-A, co sugeruje, że aktywność obu czynników transkrypcyjnych jest podstawowa dla ekspresji badanego genu. Przypuszcza się, że w komórkach RASM może dochodzić do funkcjonalnej interakcji między czynnikami transkrypcyjnymi Sp1 i NF-Y, która stabilizuje ich wiązanie w regionie promotorowym genu dla GC-A [47].

W regionie promotorowym genu dla GC-A są obecne również elementy wiążące takie czynniki transkrypcyjne jak Ets-1, p300, LyF-1 czy GATA-1 [18,40]. Sugerowano, że czynniki transkrypcyjne z rodziny Ets pełnią istotną rolę w tworzeniu kompleksu inicjującego transkrypcję genów, których promotory nie zawierają sekwencji TATA. W regionie promotorowym genu kodującego GC-A stwierdzono obecność dwóch motywów wiążących Ets-1, znajdujących się w pobliżu miejsca początkowego transkrypcji [17]. I rzeczywiście wykazano, że w mysich komórkach mezangialnych (MMC, mouse mesangial cells) Ets-1 jest krytycznym regulatorem transkrypcji genu dla GC-A oraz aktywności tego receptora [40,41]. Udowodniono bowiem, że nadekspresja egzogennej Ets-1 w komórkach MMC powoduje nawet 12-krotny wzrost aktywności promotora genu dla GC-A, podczas gdy zmniejszenie dostępności endogennej czynnika transkrypcyjnego Ets-1, przez zastosowanie siRNA do jego wyciszenia, wywołuje spadek aktywności prawie o 80%. Jednocześnie badacze zaobserwowali, że elementy *cis* wiążące białka GATA-1 czy LyF-1 są negatywnymi regulatorami ekspresji GC-A, ponieważ w komórkach MMC nadekspresja GATA-1 lub LyF-1 dochodzi do obniżenia podstawowej aktywności promotora dla GC-A o odpowiednio 50 lub 80% [40,41]. Kumar i wsp. wykazali, że w procesie regulacji ekspresji genu kodującego GC-A czynnik transkrypcyjny Ets-1 współdziała z czynnikiem transkrypcyjnym Sp1 [42,43,44]. Wykorzystując technikę immunoprecypitacji chromatyny zaobserwowali, że w komórkach MMC traktowanych kwasem all-trans retinowym (ATRA), który bierze udział w wielu procesach fizjologicznych oraz patofizjologicznych, dochodzi do wzmożonego wiązania obu czynników transkrypcyjnych do regionu promotorowego GC-A. Ponadto wykazali, że Ets-1 i Sp1 rekrutują receptor kwasu retinowego α (RAR α), co prowadzi do utworzenia funkcjonalnego kompleksu RAR α -Ets-1-Sp1, aktywujące-

go transkrypcję genu dla GC-A [42]. Badacze zaobserwowali również (zarówno w warunkach *in vitro*, jak i *in vivo*), że ATRA indukuje acetylację histonów H3 i H4 w pobliżu miejsc wiążących czynniki transkrypcyjne Ets-1 i Sp1 do regionu promotorowego dla GC-A, powodując rozwinięcie nici DNA i ułatwienie wiązania tych białek z DNA [42,43]. Kumar i wsp. wykazali, że zahamowanie aktywności deacetylaz histonów (HDAC1 i 2) prowadzi do dynamicznej rearanżacji chromatyny w obrębie promotora genu dla GC-A [44]. Jak wykazano, osłabienie aktywności HDAC1 i 2, przez zastosowanie inhibitorów tych enzymów, wzmacnia aktywację acetylotransferaz histonów (HAT), takich jak p300 oraz PCAF, a to indukuje acetylację zarówno histonów H3 i H4, jak i czynnika transkrypcyjnego Sp1 oraz ich rekrutację do regionu promotorowego genu dla GC-A, a w konsekwencji ekspresję cykazy guanylanowej typu A.

Wyniki badań wskazujące, że ekspresja oraz aktywność GC-A może być hamowana w wyniku długotrwałego traktowania komórek przez ANP [4], sugerowały, że w regionie promotorowym genu dla GC-A istnieje element odpowiedzi na cGMP, który jest odpowiedzialny za negatywną regulację transkrypcji genu dla GC-A przez wewnątrzkomórkową akumulację cGMP. Wstępne badania wykorzystujące ukierunkowaną mutagenezę wskazały, że taki element regulatorowy jest umiejscowiony w regionie promotorowym GC-A szczura między pozycją – 1575 a – 1290 [4]. W 2004 r. grupa badaczy [24] zidentyfikowała, obecną w regionie promotorowym genu kodującego GC-A, sekwencję będącą elementem odpowiedzi na cGMP (cGMP-RE, cGMP – response element). Na podstawie analizy funkcjonalnej szczurzego regionu promotorowego genu dla GC-A stwierdzono, że cGMP-RE jest 18-nukleotydową sekwencją umieszczoną między pozycjami – 1372 a – 1354. Jak wykazano, delecja cGMP-RE z regionu promotorowego genu dla GC-A, zwiększa aktywność transkrypcyjną tego promotora, w obecności ANP, o około 40%. Sekwencja ta została również zidentyfikowana w regionie promotorowym genu kodującego GC-A myszy (95% homologii) i człowieka (75% homologii) [24]. Do tej pory zidentyfikowano tylko jedno białko zdolne do wiązania się do cGMP-RE i nazwano je GREBP (cGMP-response element binding protein) [53]. Gen kodujący GREBP został umiejscowiony w ludzkim chromosomie w pozycji 1p36.33 w pobliżu genu kodującego ANP (1p36.21). Wykazano, że białko to pełni funkcję represora transkrypcji genu dla GC-A. Wyciszenie genu dla GREBP przez zastosowanie shRNA zwiększa bowiem aktywność promotora genu dla cykazy i ekspresję tego enzymu. Wyniki przeprowadzonych badań wskazują również, że białko GREBP może być zaangażowane w negatywną regulację ekspresji genu dla GC-A w odpowiedzi na ANP, ponieważ traktowanie komórek ANP prowadzi do wzrostu poziomu mRNA dla GREBP i jednocześnie obserwuje się obniżenie ekspresji cykazy w komórkach.

Chociaż prace nad regulacją transkrypcji genu kodującego GC-A rozpoczęły się już w latach 90 ub.w., to jednak proces ten nie został jeszcze do końca wyjaśniony. Lepsze zrozumienie mechanizmów odpowiedzialnych za regulację ekspresji genu dla GC-A może być podstawą rozwoju strategii tera-

peutycznych, w których przez manipulowanie poziomem ekspresji receptora można kontrolować biologiczne działanie peptydów natriuretycznych (ANP i BNP) w różnych stanach patologicznych.

FIZJOLOGICZNE FUNKCJE GC-A

Jak już wspomniano, cykazy guanylanowa typu A odpowiada za prawidłowe działanie różnych procesów komórkowych. Najdokładniej opisano rolę GC-A związaną z funkcjonowaniem układu sercowo-naczyniowego. Wykazano, że system ANP/GC-A odpowiada m.in. za zmniejszenie obciążenia serca przez obniżanie napięcia ścian naczyń krwionośnych, stymulację procesów natriurezy i diurezy, hamowanie szlaku renina-angiotensyna-aldosteron (RAA) czy hamowanie wzrostu kardiomiocytów.

Wielu dowodów potwierdzających udział cykazy guanylanowej typu A w regulacji układu krwionośnego dostarczyły badania prowadzone na modelu genetycznie modyfikowanych myszy (myszy z nokautem lub nadekspresją genu kodującego GC-A). Udowodniono, że fenotyp myszy pozbawionych tego genu cechują zaburzenia w funkcjonowaniu układu sercowo-naczyniowego. U zwierząt tych obserwuje się bowiem ciężkie, przewlekłe nadciśnienie tętnicze oraz przerost mięśnia sercowego [31,39,67,87]. Natomiast genetycznie zmodyfikowane myszy mające dodatkowe kopie genu kodującego GC-A nie wykazują poważniejszych zaburzeń w rozwoju. Wśród ich najważniejszych cech fenotypowych można wyróżnić obniżone ciśnienie tętnicze i niższe stężenie ANP w osoczu [31,67,87].

Układ ANP/GC-A reguluje ciśnienie oraz objętość krwi częściowo przez hamowanie szlaku RAA [79,102]. ANP/GC-A redukuje wydzielanie reniny, angiotensyny II, wykazującej silne właściwości obkurczające naczynia krwionośne oraz aldosteronu z komórek kłębuszkowych nadnerczy, który odpowiada za resorpcję zwrotną sodu w cewce nerkowej. Sód zatrzymuje wodę w naczyniach, przez co również przyczynia się do wzrostu ciśnienia tętniczego. W nerkach, przedsionkowy peptyd natriuretyczny, przez aktywację GC-A, zwiększa współczynnik filtracji kłębuszkowej, a to także indukuje procesy diurezy i natriurezy [74]. Cykazy guanylanowa typu A przeciwdziała również procesom włóknienia mięśnia sercowego, tzw. fibrogenzie [87,88]. Zaobserwowano, że w sercach myszy pozbawionych genu kodującego GC-A zdecydowanie wzrasta ekspresja i aktywność MMP-2 oraz MMP-9 (metaloproteinazy macierzy zewnątrzkomórkowej), które jak wcześniej wykazano są zaangażowane w fibrogenzę [86,93]. Wykazano, że w sercach tych zwierząt dochodzi również do wzmożonej syntezy kolagenu i zwiększonego wytwarzania TGF-β1 (transformujący czynnik wzrostu β1), który jest czynnikiem stymulującym włóknienie.

Oprócz roli, jaką GC-A pełni w układzie sercowo-naczyniowym, nieliczne dane literaturowe wskazują również na udział ANP/GC-A w procesach nowotworzenia. Vesely i wsp. wykazali co prawda, że przedsionkowy peptyd natriuretyczny, przez hamowanie syntezy DNA, obniża proliferację komórek nowotworowych oraz wzrost guza

(ludzki gruczolakorak trzustki), nie opisali natomiast bezpośredniego udziału GC-A w tym procesie [89]. Inni badacze zaobserwowali jednak, że cyklaza guanylanowa typu A sprzyja rozwojowi różnych nowotworów (m.in. stercza, płuc, skóry czy jajnika). Na podstawie badań przeprowadzonych u genetycznie zmodyfikowanych myszy autorzy wykazali, że cyklaza ta jest zaangażowana w angiogenezę w rejonie guza, ponieważ nokaut genu tego białka wyraźnie obniża progresję choroby nowotworowej [38,95]. Uzyskane wyniki sugerują, że GC-A może być dobrym markerem prognostycznym i celem w terapii przeciwnowotworowej.

Z dostępnych danych wynika, że cyklaza guanylanowa typu A wpływa również na funkcjonowanie komórek układu odpornościowego, takich jak monocyty czy makrofagi. Stwierdzono m.in., że szlak sygnałowy zależny od ANP/GC-A/cGMP działa supresyjnie na prozapalne czynniki transkrypcyjne NF- κ B i AP-1 w komórkach aktywowanych lipopolisacharydem bakteryjnym, przez co obniża uwalnianie ważnych mediatorów reakcji zapalnej, takich jak IL-1 β , IL-6 czy TNF- α [3,29,56,59,91]. Przeciwwapalne działanie aktywatora GC-A wykazano również w warunkach *in vivo* [46,62]. Ladetzki-Baehs i wsp. zaobserwowali, że ANP hamuje aktywność NF- κ B, a w konsekwencji ekspresję TNF- α w surowicy myszy traktowanych LPS i tym samym wyraźnie poprawia przeżywalność tych zwierząt [46]. Inny zespół wykazał natomiast, że przedsiorkowy peptyd natriuretyczny znacznie obniża stężenie cytokin prozapalnych (TNF- α i IL-6) w popłuczynach oskrzelowo-pęcherzykowych uzyskanych od myszy z ostrym uszkodzeniem płuc indukowanym LPS, w porównaniu do myszy traktowanych jedynie lipopolisacharydem [62]. Na podstawie badań przeprowadzonych z użyciem genetycznie modyfikowanych myszy stwierdzono również, że u zwierząt pozbawionych genu dla GC-A dochodzi do nadmiernej aktywacji kaskady sygnałowej zależnej od czynników transkrypcyjnych NF- κ B i AP-1, co znacznie podwyższa poziom cytokin prozapalnych zarówno w surowicy, jak i w sercu tych myszy, a to powoduje przerost i niewydolność serca. U myszy z nadekspresją genu dla GC-A zaobserwowano natomiast zupełnie odwrotny wynik. Stwierdzono, że zwiększona aktywacja układu GC-A/cGMP hamuje stan zapalny i przyczynia się do osłabienia niekorzystnej przebudowy mięśnia sercowego [87].

PODSUMOWANIE

Cyklaza guanylanowa typu A jest jedną z najdokładniej scharakteryzowanych błonowych cykazy guanylanowych, odpowiedzialnych za syntezę cyklicznego GMP, który pełni istotną rolę w różnych procesach komórkowych. Jednak, mimo ponad trzydziestu lat badań nad tymi enzymami, zarówno proces regulacji aktywności katalitycznej GC-A, jak i molekularny mechanizm regulacji ekspresji genu kodującego to białko nie zostały jeszcze w pełni wyjaśnione. Dokładne poznanie tych mechanizmów może mieć nie tylko znaczenie poznawcze, ale również terapeutyczne. Większość prac dotyczących funkcji, jakie GC-A pełni w organizmie odnosi się do układu sercowo-naczyniowego, w którym peptydy natriuretyczne aktywujące GC-A, przez działanie natriuretyczne, diuretyczne czy naczyniorozszerzające, są odpowiedzialne głównie za utrzymanie homeostazy w zakresie ciśnienia oraz objętości krążącej krwi. Jednak w ostatnim czasie pojawiają się również doniesienia o udziale GC-A w rozwoju choroby nowotworowej, wskazujące, że enzym ten może być markerem prognostycznym i celem w terapii tych chorób. Odnotowany jest również udział szlaku ANP/GC-A/cGMP w funkcjonowaniu komórek odpornościowych. W literaturze istnieją bowiem dowody potwierdzające przeciwwapalne działanie tej ścieżki sygnałowej. Ponadto wykazano, że w pewnych warunkach w komórkach monocytarnych, w których jest obecna rozpuszczalna GC, może się pojawiać również aktywna GC-A [2,58,63]. Przypuszcza się, że zmiana fenotypu tych komórek na GC-A pozytywne może być korzystna w niektórych schorzeniach (m.in. w niewydolności serca czy marskości wątroby), którym towarzyszy drastyczny wzrost poziomu peptydów natriuretycznych (ANP i BNP) w surowicach chorych. Można się spodziewać, że w przypadku obecności GC-A w komórkach chorych zachodziłaby intensywniejsza, w porównaniu z komórkami osób zdrowych, synteza cGMP, prowadząca do odmiennego efektu komórkowego. Brakuje jednak danych dotyczących fizjologicznych czynników i mechanizmów indukujących ekspresję GC-A w tych komórkach.

W związku z powyższym wydaje się, że lepsze poznanie i zrozumienie mechanizmów odpowiedzialnych za indukcję oraz regulację ekspresji genu dla GC-A może być podstawą do opracowywania programów leczenia pacjentów z różnymi stanami patologicznymi.

PIŚMIENICTWO

- [1] Ashman D.F., Lipton R., Melicow M.M., Price T.D.: Isolation of adenosine 3',5'-monophosphate and guanosine 3',5'-monophosphate from rat urine. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 1963; 11: 330-334
- [2] Bender A.T., Ostenson C.L., Giordano D., Beavo J.A.: Differentiation of human monocytes *in vitro* with granulocyte-macrophage colony-stimulating factor and macrophage colony-stimulating factor produces distinct changes in cGMP phosphodiesterase expression. *Cell. Signal.*, 2004; 16: 365-374
- [3] Borán M.S., Baltrons M.A., García A.: The ANP-cGMP-protein kinase G pathway induces a phagocytic phenotype but decreases inflammatory gene expression in microglial cells. *Glia*, 2008; 56: 394-411
- [4] Cao L., Wu J., Gardner D.G.: Atrial natriuretic peptide suppresses the transcription of its guanylyl cyclase-linked receptor. *J. Biol. Chem.*, 1995; 270: 24891-24897
- [5] Chao Y.C., Cheng C.J., Hsieh H.T., Lin C.C., Chen C.C., Yang R.B.: Guanylate cyclase-G, expressed in the Gruenberg ganglion olfactory subsystem, is activated by bicarbonate. *Biochem. J.*, 2010; 432: 267-273
- [6] Chinkers M., Garbers D.L., Chang M.S., Lowe D.G., Chin H.M., Goeddel D.V., Schulz S.: A membrane form of guanylate cyclase is an atrial natriuretic peptide receptor. *Nature*, 1989; 338: 78-83
- [7] Chrisman T.D., Garbers D.L., Parks M.A., Hardman J.G.: Character-

rization of particulate and soluble guanylate cyclases from rat lung. *J. Biol. Chem.*, 1975; 250: 374-381

[8] Ciuman M., Siednienko J., Czyżyk R., Witwicka H., Kołosionek E., Kobiałka M., Gorczyca W.A.: Cyclic GMP-dependent protein kinase and soluble guanylyl cyclase disappear in elicited rat neutrophils. *Biochim. Biophys. Acta*, 2006; 1760: 1618-1623

[9] Connelly L., Jacobs A.T., Palacios-Callender M., Moncada S., Hobbs A.J.: Macrophage endothelial nitric-oxide synthase autoregulates cellular activation and pro-inflammatory protein expression. *J. Biol. Chem.*, 2003; 278: 26480-26487

[10] Currie M.G., Geller D.M., Cole B.R., Siegel N.R., Fok K.F., Adams S.P., Eubanks S.R., Galluppi G.R., Needleman P.: Purification and sequence analysis of bioactive atrial peptides (atriopeptins). *Science*, 1984; 223: 67-69

[11] de Bold A.J., Borenstein H.B., Veress A.T., Sonnenberg H.: A rapid and potent natriuretic response to intravenous injection of atrial myocardial extract in rats. *Life Sci.*, 1981; 28: 89-94

[12] Dolfini D., Gatta R., Mantovani R.: NF- κ B and the transcriptional activation of CCAAT promoters. *Crit. Rev. Biochem. Mol. Biol.*, 2012; 47: 29-49

[13] Flora D.R., Potter L.R.: Prolonged atrial natriuretic peptide exposure stimulates guanylyl cyclase-A degradation. *Endocrinology*, 2010; 151: 2769-2776

[14] Flynn T.G., de Bold M.L., de Bold A.J.: The amino acid sequence of an atrial peptide with potent diuretic and natriuretic properties. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 1983; 117: 859-865

[15] Friebe A., Koesling D.: Regulation of nitric oxide-sensitive guanylyl cyclase. *Circ. Res.*, 2003; 93: 96-105

[16] Garbers D.L., Gray J.P.: Guanylate cyclase from sperm of the sea urchin, *Strongylocentrotus purpuratus*. *Methods Enzymol.*, 1974; 38:196-199

[17] Garg R., Oliver P.M., Maeda N., Pandey K.N.: Genomic structure, organization, and promoter region analysis of murine guanylyl cyclase/atrial natriuretic peptide receptor-A gene. *Gene*, 2002; 297: 123-133

[18] Garg R., Pandey K.N.: Regulation of guanylyl cyclase/natriuretic peptide receptor-A gene expression. *Peptides*, 2005; 26: 1009-1023

[19] Gorczyca W.A.: Cykazy guanylanowe i ich udział w wewnątrzkomórkowym przekazywaniu sygnału. W: Receptory i mechanizmy przekazywania sygnału, red.: Nowak J.Z., Zawilska J.B., Wydawnictwo Naukowe PWN, Warszawa 2004, 64-89

[20] Guo D., Zhang J.J., Huang X.Y.: Stimulation of guanylyl cyclase-D by bicarbonate. *Biochemistry*, 2009; 48: 4417-4422

[21] Hamet P., Tremblay J., Pang S.C., 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: 515-527

[22] Hardman J.G., Sutherland E.W.: Guanyl cyclase, an enzyme catalyzing the formation of guanosine 3',5'-monophosphate from guanosine triphosphate. *J. Biol. Chem.*, 1969; 244: 6363-6370

[23] Heim J.M., Singh S., Gerzer R.: Effect of glycosylation on cloned ANF-sensitive guanylyl cyclase. *Life Sci.*, 1996; 59: 61-68

[24] Hum D., Besnard S., Sanchez R., Devost D., Gossard F., Hamet P., Tremblay J.: Characterization of a cGMP-response element in the guanylyl cyclase/natriuretic peptide receptor A gene promoter. *Hypertension*, 2004; 43:1270-1278

[25] Ichiki T., Huntley B.K., Burnett J.C.Jr.: BNP molecular forms and processing by the cardiac serine protease corin. *Adv. Clin. Chem.*, 2013; 61: 1-31

[26] Kalra D., Baumgarten G., Dibbs Z., Seta Y., Sivasubramanian N., Mann D.L.: Nitric oxide provokes tumor necrosis factor- α expression

in adult feline myocardium through a cGMP-dependent pathway. *Circulation*, 2000; 102: 1302-1307

[27] Kamisaki Y., Saheki S., Nakane M., Palmieri J.A., Kuno T., Chang B.Y., Waldman S.A., Murad F.: Soluble guanylate cyclase from rat lung exists as a heterodimer. *J. Biol. Chem.*, 1986; 261: 7236-7241

[28] Kangawa K., Tawaragi Y., Oikawa S., Mizuno A., Sakuragawa Y., Nakazato H., Fukuda A., Minamino N., Matsuo H.: Identification of rat g atrial natriuretic polypeptide and characterization of the cDNA encoding its precursor. *Nature*, 1984; 312: 152-155

[29] Kierner A.K., Hartung T., Vollmar A.M.: cGMP-mediated inhibition of TNF- α production by the atrial natriuretic peptide in murine macrophages. *J. Immunol.*, 2000; 165: 175-181

[30] Kimura H., Murad F.: Evidence for two different forms of guanylate cyclase in rat heart. *J. Biol. Chem.*, 1974; 249: 6910-6916

[31] Kishimoto I., Rossi K., Garbers D.L.: A genetic model provides evidence that the receptor for atrial natriuretic peptide (guanylyl cyclase-A) inhibits cardiac ventricular myocyte hypertrophy. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2001; 98: 2703-2706

[32] Kobiałka M., Witwicka H., Siednienko J., Gorczyca W.A.: Metabolism of cyclic GMP in peritoneal macrophages of rat and guinea pig. *Acta Biochim. Pol.*, 2003; 50: 837-848

[33] Koesling D.: Modulators of soluble guanylyl cyclase. *Naunyn Schmiedeberg's Arch. Pharmacol.*, 1998; 358: 123-126

[34] Koesling D.: Studying the structure and regulation of soluble guanylyl cyclase. *Methods*, 1999; 19: 485-493

[35] Koh G.Y., Nussenzveig D.R., Okolicany J., Price D.A., Maack T.: Dynamics of atrial natriuretic factor-guanylate cyclase receptors and receptor-ligand complexes in cultured glomerular mesangial and renomedullary interstitial cells. *J. Biol. Chem.*, 1992; 267: 11987-11994

[36] Koller K.J., Lipari M.T., Goeddel D.V.: Proper glycosylation and phosphorylation of the type A natriuretic peptide receptor are required for hormone-stimulated guanylyl cyclase activity. *J. Biol. Chem.*, 1993; 268: 5997-6003

[37] Kone B.C.: Molecular biology of natriuretic peptides and nitric oxide synthases. *Cardiovasc. Res.*, 2001; 51: 429-441

[38] Kong X., Wang X., Xu W., Behera S., Hellermann G., Kumar A., Lockey R.F., Mohapatra S., Mohapatra S.S.: Natriuretic peptide receptor A as a novel anticancer target. *Cancer Res.*, 2008; 68: 249-256

[39] Kuhn M., Holtwick R., Baba H.A., Perriard J.C., Schmitz W., Ehler E.: Progressive cardiac hypertrophy and dysfunction in atrial natriuretic peptide receptor (GC-A) deficient mice. *Heart*, 2002; 87: 368-374

[40] Kumar P., Arise K.K., Pandey K.N.: Transcriptional regulation of guanylyl cyclase/natriuretic peptide receptor-A gene. *Peptides*, 2006; 27: 1762-1769

[41] Kumar P., Bolden G., Arise K.K., Krazit S.T., Pandey K.N.: Regulation of natriuretic peptide receptor-A gene expression and stimulation of its guanylyl cyclase activity by transcription factor Ets-1. *Biosci. Rep.*, 2009; 29: 57-70

[42] Kumar P., Garg R., Bolden G., Pandey K.N.: Interactive roles of Ets-1, Sp1, and acetylated histones in the retinoic acid-dependent activation of guanylyl cyclase/atrial natriuretic peptide receptor-A gene transcription. *J. Biol. Chem.*, 2010; 285: 37521-37530

[43] Kumar P., Periyasamy R., Das S., Neerukonda S., Mani I., Pandey K.N.: All-trans retinoic acid and sodium butyrate enhance natriuretic peptide receptor A gene transcription: role of histone modification. *Mol. Pharmacol.*, 2014; 85: 946-957

[44] Kumar P., Tripathi S., Pandey K.N.: Histone deacetylase inhibitors modulate the transcriptional regulation of guanylyl cyclase/natriuretic peptide receptor-A gene: interactive roles of modified histones, histone acetyltransferase, p300, and Sp1. *J. Biol. Chem.*, 2014; 289: 6991-7002

- [45] Kurihara M., Katamine S., Saavedra J.M.: Atrial natriuretic peptide, ANP(99-126), receptors in rat thymocytes and spleen cells. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 1987; 145: 789-796
- [46] Ladetzi-Baehs K., Keller M., Kiemer A.K., Koch E., Zahler S., Wendel A., Vollmar A.M.: Atrial natriuretic peptide, a regulator of nuclear factor- κ B activation *in vivo*. *Endocrinology*, 2007; 148: 332-336
- [47] Liang F., Schaufele F., Gardner D.G.: Functional interaction of NF- κ B and Sp1 is required for type A natriuretic peptide receptor gene transcription. *J. Biol. Chem.*, 2001; 276: 1516-1522
- [48] Liang F., Schaufele F., Gardner D.G.: Sp1 dependence of natriuretic peptide receptor A gene transcription in rat aortic smooth muscle cells. *Endocrinology*, 1999; 140: 1695-1701
- [49] Lowe D.G., Chang M.S., Hellmiss R., Chen E., Singh S., Garbers D.L., Goeddel D.V.: Human atrial natriuretic peptide receptor defines a new paradigm for second messenger signal transduction. *EMBO J.*, 1989; 8: 1377-1384
- [50] Lowe D.G., Fendly B.M.: Human natriuretic peptide receptor-A guanylyl cyclase. Hormone cross-linking and antibody reactivity distinguish receptor glycoforms. *J. Biol. Chem.*, 1992; 267: 21691-21697
- [51] Lowe D.G., Klisak I., Sparkes R.S., Mohandas T., Goeddel D.V.: Chromosomal distribution of three members of the human natriuretic peptide receptor/guanylyl cyclase gene family. *Genomics*, 1990; 8: 304-312
- [52] Lucas K.A., Pitargi G.M., Kazerounian S., Ruiz-Stewart I., Park J., Schulz S., Chepenik K.P., Waldman S.A.: Guanylyl cyclases and signaling by cyclic GMP. *Pharmacol. Rev.*, 2000; 52: 375-414
- [53] Martel G., Hamet P., Tremblay J.: GREBP, a cGMP-response element-binding protein repressing the transcription of natriuretic peptide receptor 1 (NPR1/GCA). *J. Biol. Chem.*, 2010; 285: 20926-20939
- [54] Misono K.S., Grammer R.T., Fukumi H., Inagami T.: Rat atrial natriuretic factor: isolation, structure and biological activities of four major peptides. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 1984; 123: 444-451
- [55] Misono K.S., Philo J.S., Arakawa T., Ogata C.M., Qiu Y., Ogawa H., Young H.S.: Structure, signaling mechanism and regulation of the natriuretic peptide receptor-guanylate cyclase. *FEBS J.*, 2011; 278: 1818-1829
- [56] Mitkiewicz M., Kuropatwa M., Kurowska E., Gorczyca W.A.: Different effects of soluble and particulate guanylyl cyclases on expression of inflammatory cytokines in rat peripheral blood mononuclear cells. *Immunobiology*, 2011; 216: 423-430
- [57] Miyagi M., Zhang X., Misono K.S.: Glycosylation sites in the atrial natriuretic peptide receptor: oligosaccharide structures are not required for hormone binding. *Eur. J. Biochem.*, 2000; 267: 5758-5768
- [58] Morita R., Ukyo N., Furuya M., Uchiyama T., Hori T.: Atrial natriuretic peptide polarizes human dendritic cells toward a Th2-promoting phenotype through its receptor guanylyl cyclase-coupled receptor A. *J. Immunol.*, 2003; 170: 5869-5875
- [59] Moriyama N., Taniguchi M., Miyano K., Miyoshi M., Watanabe T.: ANP inhibits LPS-induced stimulation of rat microglial cells by suppressing NF- κ B and AP-1 activations. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 2006; 350: 322-328
- [60] Müller D., Middendorff R., Olcese J., Mukhopadhyay A.K.: Central nervous system-specific glycosylation of the type A natriuretic peptide receptor. *Endocrinology*, 2002; 143: 23-29
- [61] Nakayama T., Soma M., Takahashi Y., Rehmodula D., Sato M., Uwabo J., Izumi Y., Kanmatsuse K.: Nucleotide sequence of the 5'-flanking region of the type A human natriuretic peptide receptor gene and association analysis using a novel microsatellite in essential hypertension. *Am. J. Hypertens.*, 1999; 12: 1144-1148
- [62] Nojiri T., Hosoda H., Tokudome T., Miura K., Ishikane S., Kimura T., Shintani Y., Inoue M., Sawabata N., Miyazato M., Okumura M., Kangawa K.: Atrial natriuretic peptide inhibits lipopolysaccharide-induced acute lung injury. *Pulm. Pharmacol. Ther.*, 2014; 29: 24-30
- [63] O'Dorisio M.S., Fertel R., Finkler E., Brooks R., Vassallo L.: Characterization of cyclic nucleotide metabolism during human monocyte differentiation. *J. Leukoc. Biol.*, 1984; 35: 617-630
- [64] Ogawa H., Qiu Y., Ogata C.M., Misono K.S.: Crystal structure of hormone-bound atrial natriuretic peptide receptor extracellular domain: rotation mechanism for transmembrane signal transduction. *J. Biol. Chem.*, 2004; 279: 28625-28631
- [65] Ogawa H., Qiu Y., Philo J.S., Arakawa T., Ogata C.M., Misono K.S.: Reversibly bound chloride in the atrial natriuretic peptide receptor hormone-binding domain: possible allosteric regulation and a conserved structural motif for the chloride-binding site. *Protein Sci.*, 2010; 19: 544-557
- [66] Pandey K.N.: Ligand-mediated endocytosis and intracellular sequestration of guanylyl cyclase/natriuretic peptide receptors: role of GDAY motif. *Mol. Cell. Biochem.*, 2010; 334: 81-98
- [67] Pandey K.N.: The functional genomics of guanylyl cyclase/natriuretic peptide receptor-A: perspectives and paradigms. *FEBS J.*, 2011; 278: 1792-1807
- [68] Pandey K.N., Nguyen H.T., Garg R., Khurana M.L., Fink J.: Internalization and trafficking of guanylyl (guanylate) cyclase/natriuretic peptide receptor A is regulated by an acidic tyrosine-based cytoplasmic motif GDAY. *Biochem. J.*, 2005; 388: 103-113
- [69] Pilz R.B., Broderick K.E.: Role of cyclic GMP in gene regulation. *Front. Biosci.*, 2005; 10: 1239-1268
- [70] Pilz R.B., Casteel D.E.: Regulation of gene expression by cyclic GMP. *Circ. Res.*, 2003; 93: 1034-1046
- [71] Potter L.R.: Guanylyl cyclase structure, function and regulation. *Cell. Signal.*, 2011; 23: 1921-1926
- [72] Potter L.R.: Natriuretic peptide metabolism, clearance and degradation. *FEBS J.*, 2011; 278: 1808-1817
- [73] Potter L.R.: Regulation and therapeutic targeting of peptide-activated receptor guanylyl cyclases. *Pharmacol. Ther.*, 2011; 130: 71-82
- [74] Potter L.R., Abbey-Hosch S., Dickey D.M.: Natriuretic peptides, their receptors, and cyclic guanosine monophosphate-dependent signaling functions. *Endocr. Rev.*, 2006; 27: 47-72
- [75] Russwurm M., Koesling D.: Isoforms of NO-sensitive guanylyl cyclase. *Mol. Cell. Biochem.*, 2002; 230: 159-164
- [76] Schröter J., Zahedi R.P., Hartmann M., Gassner B., Gazinski A., Waschke J., Sickmann A., Kuhn M.: Homologous desensitization of guanylyl cyclase A, the receptor for atrial natriuretic peptide, is associated with a complex phosphorylation pattern. *FEBS J.*, 2010; 277: 2440-2453
- [77] Schultz G., Bohme E., Munske K.: Guanylyl cyclase. Determination of enzyme activity. *Life Sci.*, 1969; 8: 1323-1332
- [78] Semenov A.G., Tamm N.N., Seferian K.R., Postnikov A.B., Karpova N.S., Serebryanaya D.V., Koshkina E.V., Krasnoselsky M.I., Katrukha A.G.: Processing of pro-B-type natriuretic peptide: furin and corin as candidate convertases. *Clin. Chem.*, 2010; 56: 1166-1176
- [79] Shi S.J., Nguyen H.T., Sharma G.D., Navar L.G., Pandey K.N.: Genetic disruption of atrial natriuretic peptide receptor-A alters renin and angiotensin II levels. *Am. J. Physiol. Renal Physiol.*, 2001; 281: F665-F673
- [80] Siednienko J., Nowak J., Moynagh P.N., Gorczyca W.A.: Nitric oxide affects IL-6 expression in human peripheral blood mononuclear cells involving cGMP-dependent modulation of NF- κ B activity. *Cytokine*, 2011; 54: 282-288
- [81] Stone J.R., Marletta M.A.: Spectral and kinetic studies on the activation of soluble guanylate cyclase by nitric oxide. *Biochemistry*, 1996; 35: 1093-1099

- [82] Su J., Scholz P.M., Weiss H.R.: Differential effects of cGMP produced by soluble and particulate guanylyl cyclase on mouse ventricular myocytes. *Exp. Biol. Med.*, 2005; 230: 242-250
- [83] Sudoh T., Kangawa K., Minamino N., Matsuo H.: A new natriuretic peptide in porcine brain. *Nature*, 1988; 332: 78-81
- [84] Sun L., Wang H., Hu J., Han J., Matsunami H., Luo M.: Guanylyl cyclase-D in the olfactory CO₂ neurons is activated by bicarbonate. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2009; 106: 2041-2046
- [85] Takahashi Y., Nakayama T., Soma M., Izumi Y., Kanmatsuse K.: Organization of the human natriuretic peptide receptor A gene. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 1998; 246: 736-739
- [86] Tsuruda T., Boerrigter G., Huntley B.K., Noser J.A., Cataliotti A., Costello-Boerrigter L.C., Chen H.H., Burnett J.C.Jr.: Brain natriuretic peptide is produced in cardiac fibroblasts and induces matrix metalloproteinases. *Circ. Res.*, 2002; 91: 1127-1134
- [87] Vellaichamy E., Das S., Subramanian U., Maeda N., Pandey K.N.: Genetically altered mutant mouse models of guanylyl cyclase/natriuretic peptide receptor-A exhibit the cardiac expression of pro-inflammatory mediators in a gene-dose-dependent manner. *Endocrinology*, 2014; 155: 1045-1056
- [88] Vellaichamy E., Khurana M.L., Fink J., Pandey K.N.: Involvement of the NF- κ B/matrix metalloproteinase pathway in cardiac fibrosis of mice lacking guanylyl cyclase/natriuretic peptide receptor A. *J. Biol. Chem.*, 2005; 280: 19230-19242
- [89] Vesely D.L., Clark L.C., Garces A.H., McAfee Q.W., Soto J., Gower W.R.Jr.: Novel therapeutic approach for cancer using four cardiovascular hormones. *Eur. J. Clin. Invest.*, 2004; 34: 674-682
- [90] Vodovar N., Séronde M.F., Laribi S., Gayat E., Lassus J., Boukef R., Noura S., Manivet P., Samuel J.L., Logeart D., Ishihara S., Cohen Solal A., Januzzi J.L.Jr., Richards A.M., Launay J.M., Mebazaa A.: Post-translational modifications enhance NT-proBNP and BNP production in acute decompensated heart failure. *Eur. Heart J.*, 2014; 35: 3434-3441
- [91] Vollmar A.M.: The role of atrial natriuretic peptide in the immune system. *Peptides*, 2005; 26: 1086-1094
- [92] Waldman S.A., Rapoport R.M., Murad F.: Atrial natriuretic factor selectively activates particulate guanylate cyclase and elevates cyclic GMP in rat tissues. *J. Biol. Chem.*, 1984; 259: 14332-14334
- [93] Wang D., Oparil S., Feng J.A., Li P., Perry G., Chen L.B., Dai M., John S.W., Chen Y.F.: Effects of pressure overload on extracellular matrix expression in the heart of the atrial natriuretic peptide-null mouse. *Hypertension*, 2003; 42: 88-95
- [94] Wang W., Liao X., Fukuda K., Knappe S., Wu F., Dries D.L., Qin J., Wu Q.: Corin variant associated with hypertension and cardiac hypertrophy exhibits impaired zymogen activation and natriuretic peptide processing activity. *Circ. Res.*, 2008; 103: 502-508
- [95] Wang X., Raulji P., Mohapatra S.S., Patel R., Hellermann G., Kong X., Vera P.L., Meyer-Siegler K.L., Coppola D., Mohapatra S.: Natriuretic peptide receptor as a novel target for prostate cancer. *Mol. Cancer*, 2011; 10: 56
- [96] White A.A., Aurbach G.D.: Detection of guanyl cyclase in mammalian tissues. *Biochim. Biophys. Acta*, 1969; 191: 686-697
- [97] Winquist R.J., Faison E.P., Waldman S.A., Schwartz K., Murad F., Rapoport R.M.: Atrial natriuretic factor elicits an endothelium-independent relaxation and activates particulate guanylate cyclase in vascular smooth muscle. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1984; 81: 7661-7664
- [98] Yamaguchi M., Rutledge L.J., Garbers D.L.: The primary structure of the rat guanylyl cyclase A/atrial natriuretic peptide receptor gene. *J. Biol. Chem.*, 1990; 265: 20414-20420
- [99] 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
- [100] Yoder A.R., Stone M.D., Griffin T.J., Potter L.R.: Mass spectrometric identification of phosphorylation sites in guanylyl cyclase A and B. *Biochemistry*, 2010; 49: 10137-10145
- [101] Zabel U., Häusler C., Weeger M., Schmidt H.H.: Homodimerization of soluble guanylyl cyclase subunits. Dimerization analysis using a glutathione s-transferase affinity tag. *J. Biol. Chem.*, 1999; 274: 18149-18152
- [102] Zhao D., Vellaichamy E., Somanna N.K., Pandey K.N.: Guanylyl cyclase/natriuretic peptide receptor-A gene disruption causes increased adrenal angiotensin II and aldosterone levels. *Am. J. Physiol. Renal Physiol.*, 2007; 293: F121-F127

Autorka deklaruje brak potencjalnych konfliktów interesów.