

Σηματοδοτικές οδοί της ενδογενούς ουαμπαΐνης και νατριούρησης

Ι. Γριβέας¹
Π. Πασαδάκης²
Ν. Παπαγαλάνης³

Περίληψη

Η παρούσα ανασκόπηση αναφέρεται στην ενδογενή ουαμπαΐνη (ouabain), η οποία ανήκει στα ενδογενή καρδιοτονωτικά στεροειδή (endogenous cardiotonic steroids, CTS), ομάδα γνωστή και ως παράγοντες παρόμοιοι με δακτυλίτιδα (digitalis-like factors), ή αναστολέας της Na^+/K^+ -ΑΤΡάσης. Τα CTS αποτελούν σύνδεσμο της διατροφικής πρόσληψης NaCl και των καρδιαγγειακών και νεφρικών παθήσεων. Αν και η ύπαρξη και η σημασία των παραγόντων αυτών αποτέλεσε αντικείμενο διαμάχης, αξιοσημείωτη είναι η πρόοδος που έχει επιτευχθεί κατά τα τελευταία 15 χρόνια. Υπάρχουν σε υψηλά επίπεδα στο πλάσμα στο 40% περίπου ασθενών με ιδιοπαθή υπέρταση. Οι παράγοντες αυτοί προκαλούν κατακράτηση άλατος μέσω αύξησης της δραστηριότητας και της έκφρασης της νεφρικής αντλίας νατρίου. Μελέτες τα τελευταία 10 χρόνια έχουν διευκρινίσει πολλές και σημαντικές πρωτεϊνικές αλληλεπιδράσεις της Na^+/K^+ -ΑΤΡάσης οι οποίες σηματοδοτούν την έναρξη μιας καινούργιας εποχής. Άς σημειωθεί ότι γνωρίζουμε μέχρι σήμερα λίγα για τη συσχέτιση μεταξύ της μεταφοράς ιόντων με βάση τη λειτουργία της Na^+/K^+ -ΑΤΡάσης και των μηχανισμών της σηματοδότησης στη ρύθμιση των λειτουργιών των κυττάρων.

Λέξεις κλειδιά: αντλία Na^+ , ουαμπαΐνη, υπέρταση.

Εισαγωγή

Η παρούσα ανασκόπηση αναφέρεται στην ενδογενή ουαμπαΐνη (ouabain), η οποία ανήκει στα ενδογενή καρδιοτονωτικά στεροειδή (endogenous cardiotonic steroids, CTS), με ομάδα γνωστή και ως παράγοντες παρόμοιοι με δακτυλίτιδα (digitalis-like factors), ως αναστολέας της Na^+/K^+ -ΑΤΡάσης¹. Τα CTS αποτελούν σύνδεσμο μεταξύ της διατροφικής πρόσληψης άλατος (NaCl) και καρδιαγγειακής και νεφρικής νόσου. Αν και η ύπαρξη και η σημασία, των παραγόντων αυτών αποτέλεσε αντικείμενο αντιπαράθεσης στην διεθνή επιστημονική κοινότητα, αξιοσημείωτη πρόοδος έχει επιτευχθεί κατά τα τελευταία 15 χρόνια. Υψηλά επίπεδα των CTS παρατηρούνται στο πλάσμα στο 40% περίπου των ασθενών με ιδιοπαθή υπέρταση, που δεν λαμβάνουν θεραπεία και συσχετίζονται άμεσα με την τιμή της αρτηριακής πίεσης. Οι παράγοντες αυτοί προκαλούν κατακράτηση νατρίου μέσω αύξησης

¹ Νεφρολογικό Τμήμα, 401 Γενικό Στρατιωτικό Νοσοκομείο Αθηνών
² Ιατρική Σχολή Δημοκρίτειου Πανεπιστημίου Θράκης
³ Νεφρολογικό Τμήμα, Γενικό Νοσοκομείο Αθηνών «Κοργιαλένιο-Μπενάκειο»

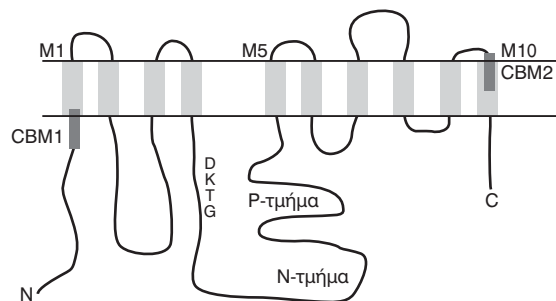
της δραστηριότητας και της έκφρασης της νεφρικής αντλίας νατρίου. Τα παραπάνω δεδομένα υποδηλώνουν το ρόλο των μορίων σηματοδότησης στις λειτουργίες της Na^+/K^+ -ΑΤΡάσης και τη συμμετοχή τους σε πολλές λειτουργίες του κυττάρου². Σκοπός αυτής της ανασκόπησης είναι επίσης η αναφορά των κλινικών εφαρμογών των ενδογενών καρδιοτονωτικών στεροειδών με έμφαση σε νέες θεραπευτικές προσεγγίσεις.

Na^+/K^+ -ΑΤΡάση

Δομή και λειτουργία

Η ανακάλυψη της αντλίας νατρίου ήταν ένα κρίσιμο βήμα στην 300-ετή μελέτη του κυττάρου ως βασική μονάδα της ζωής των ζώων. Βασικά η ύπαρξη της αντλίας νατρίου έδωσε υπόσταση στην έννοια της κυτταρικής μεμβράνης ως ορίου μεταξύ εσωτερικού και εξωτερικού των κυττάρων καθώς και μεταξύ των άλλων κυττάρων. Με βάση την ασύμμετρη κατανομή του νατρίου και του καλίου εγκατέρωθεν της κυτταρικής μεμβράνης, η επιστημονική κοινότητα ήταν έτοιμη να δεχθεί την ύπαρξη «υπερμικροσκοπικών αντλιών», εγκατεστημένων σε όλο το μήκος της κυτταρικής μεμβράνης, οι οποίες θα μπορούσαν να συμμετέχουν ενεργά στον «μικροσυντονισμό» (fine tuning) της κλίσης διάχυσης ιόντων διαμεμβρανικά σύμφωνα με τις συχνές αλλαγές στις φυσιολογικές ανάγκες των κυττάρων³. Η ανακάλυψη της αντλίας νατρίου έχει αποδοθεί στον Skou, ο οποίος το 1957 έδειξε την ύπαρξη μιας πρωτεϊνικής βάσης κατασκευής, ενσωματωμένης στην κυτταρική μεμβράνη. Αποστολή της αντλίας ήταν η μεταφορά ιόντων νατρίου έξω από το κύτταρο και ιόντων καλίου μέσα στο κύτταρο, και με τον τρόπο αυτό η μετατροπή χημικής ενέργειας σε έργο. Αξίζει να σημειωθεί ότι αυτή η ανακάλυψη κατέστη δυνατή λόγω της ύπαρξης της ουαμπαΐνης, ενός ειδικού αναστολέα της αντλίας νατρίου φυτικής προέλευσης που ομοιάζε με στεροειδές^{4,5}.

Η αντλία νατρίου/καλίου είναι ένα ενεργό σύστημα μεταφοράς των παραπάνω ιόντων που είναι άμεσα υπεύθυνη για τη διατήρηση του χαμηλού ενδοκυττάρου λόγου Na^+/K^+ και η οποία χρησιμοποιεί την υδρόλυση του ATP ως πηγή της απαραίτητης ενέργειας⁶. Ταυτόχρονα, ελέγχει ποικίλες βασικές κυτταρικές λειτουργίες όπως τη μετάδοση νευρικού ερεθίσματος, τη σύσπαση των μυών, και την ευερεθιστότητα. Συμμετέχει επίσης ενεργά στη λειτουργία συμμεταφορέων όπως ο $\text{Na}^+/\text{Ca}^{+2}$.



Εικ. 1. Σχηματική απεικόνιση της $\alpha 1$ υποομάδας της Na^+/K^+ -ΑΤΡάσης.

Η Na^+/K^+ -ΑΤΡάση αποτελείται από δύο πολυπεπτίδια σε ισομοριακές αναλογίες. Το καταλυτικό τμήμα α έχει MW περίπου 110 kDa και η γλυκοζυλιωμένη γλυκοπρωτεΐνη β περίπου 31,5 kDa. Περιέχει τις θέσεις δέσμευσης για το Na^+ και τα CTS στα εξωκυττάρια τμήματα και τις θέσεις δέσμευσης για το K^+ και το ATP στις ενδοκυτταρικές αγκύλες (Εικ. 1). Ο ρυθμιστικός ρόλος του τμήματος β είναι ο έλεγχος της δραστηριότητας της Na^+/K^+ -ΑΤΡάσης⁸. Σύμφωνα με το μοντέλο του Albers-Post η αντλία Na^+/K^+ -ΑΤΡάση μεταφέρει ιόντα νατρίου από το εσωτερικό του κυττάρου προς τα έξω ενώ ταυτόχρονα μετακινεί ιόντα καλίου προς την αντίθετη κατεύθυνση, αντίθετα από τις κλίσεις διάχυσης των υπάρχουσών συγκεντρώσεων μέσω μίας ενεργειακά εξαρτημένης διεργασίας.

Επτά επιπλέον διαμεμβρανικές πρωτεΐνες έχουν αναγνωρισθεί και έχουν πάρει το όνομα FX_{YD}⁹. Μία από αυτές τις πρωτεΐνες η FX_{YD} 2 είναι γνωστή ως το γ υποτιμήμα της Na^+/K^+ -ΑΤΡάσης και έχει MW 7,3 kDa. Οι παραπάνω πρωτεΐνες, συμπεριλαμβανομένου και του γ υποτιμήματος, δεν αποτελούν αναπόσπαστο μέρος της αντλίας νατρίου per se, αλλά σχετίζονται με συγκεκριμένους τομείς του $\alpha\beta$ συμπλέγματος και ρυθμίζουν τις καταλυτικές δραστηριότητες της Na^+/K^+ -ΑΤΡάσης¹⁰.

Λαμβάνοντας υπόψη όλα τα παραπάνω, υπάρχουν 63 διαφορετικοί υποδοχείς με τους οποίους τα CTS μπορούν να αλληλεπιδράσουν όσο γνωρίζουμε, ο χημικός χαρακτήρας αυτών των αλληλεπιδράσεων δεν είναι γνωστός.

Υπάρχουν 4 α και 3 β ισομορφές της Na^+/K^+ -ΑΤΡάσης, με διαφορετικά χαρακτηριστικά και διαφορετική ευαισθησία σε μία ποικιλία από CTS¹¹ γεγονός που επιτρέπει πολυάριθμους συνδυασμούς αλληλεπιδράσεων ανάμεσα στους ιστούς. Η κατασκευή της αντλίας νατρίου έχει λειτουργική ανομοιογένεια¹². Διαρθρωτικές και δομικές δια-

φορές στο NH₂ άκρο των α1 και α3 ισομορφών υποδηλώνει ότι η ύπαρξη πολλών ισοενζύμων της Na⁺/K⁺-ΑΤΡάσης έχει γενετική βάση⁸. Πράγματι, 4 γονίδια έχουν βρεθεί στον άνθρωπο που ελέγχουν τις α ισομορφές, 3 γονίδια τις β ισομορφές και 7 τα FX_{YD} πεπτιδία¹³. Η α1 ισομορφή είναι το κύριο ισοένζυμο που εκφράζεται στο νεφρό και το α1/β1 σύμπλεγμα βρίσκεται σχεδόν σε κάθε ιστό¹⁰.

Η αντλία νατρίου συμμετέχει στη διατήρηση των ενδοκυττάρων συγκεντρώσεων του νατρίου, μηχανισμός απαραίτητος για την ομαλή λειτουργία των λείων μυικών κυττάρων και των κυττάρων του μυοκαρδίου⁸ στον οποίο ο ρόλος των CTS είναι ουσιώδης.

Η Na⁺/K⁺-ΑΤΡάση ως ειδικός υποδοχέας

Αν και ουσίες όπως η δακτυλίτιδα ήταν σχεδόν βέβαιο ότι αποτελούσαν ένα μέρος των θεραπειών με βότανα ήδη από τον καιρό της Ρωμαϊκής Αυτοκρατορίας, οι περισσότεροι ειδικοί συμφωνούν ότι σοβαρή επιστημονική μελέτη και ιατρική εφαρμογή άρχισε με την παρατήρηση του Withering για ευεργετική επίδραση της δακτυλίτιδας (*digitalis purpurea*) το 1785. Τα CTS επίσης εισήχθησαν στην κλινική πράξη πριν από περισσότερα από 1000 χρόνια.

Τα CTS έχουν μια συγκεκριμένη θέση δέσμευσης στις εξωκυττάριας αγκύλες (TM1-TM2, TM5-TM6, TM7-TM8) του α υποτιμήματος της Na⁺/K⁺-ΑΤΡάσης ενώ μερικά αμινοξέα στις διαμεμβρανικές περιοχές (M4, M6, M10) αλληλεπιδρούν με την ουαμπαΐνη¹⁴. Τα CTS δυνατόν να χαρακτηρισθούν ως πολικά-υδροφιλά (ouabain) και σχετικά μη-πολικά-υδροφоба (διγοξίνη). Η ακολουθία αμινοξέων 111-222 (TM1-TM2) αποτελεί το πιο σημαντικό σημείο δέσμευσης των CTS και διαφορές στην ακολουθία αμινοξέων ανάμεσα σε διαφορετικά είδη και διαφορετικές ισομορφές αποτελούν τη βάση της διαφορετικής ευαισθησίας της αντλίας νατρίου σε μια ποικιλία CTS¹⁰.

Οι ιδιότητες της Na⁺/K⁺-ΑΤΡάσης (αντλία, ένζυμο και υποδοχέας CTS) αρχίζουν να γίνονται κατανοητές σε μεγαλύτερη λεπτομέρεια. Ειδικότερα, υπάρχουν ενδείξεις ότι υπερβολικά χαμηλές συγκεντρώσεις των CTS είναι σε θέση να κινητοποιήσουν μία σειρά από οδούς εξαιρετικά σημαντικές για ποικίλες κυτταρικές λειτουργίες¹⁵.

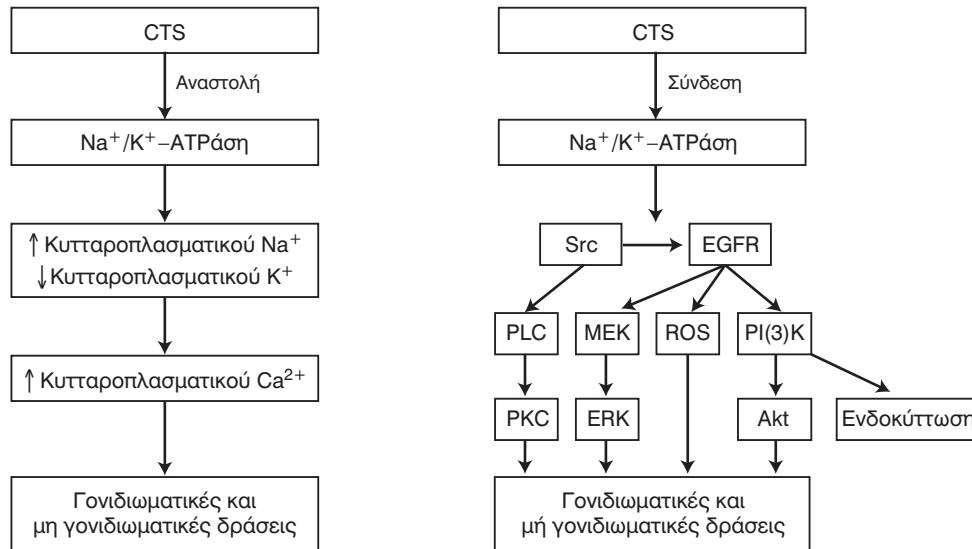
Η κατανόηση των μηχανισμών που ενέχονται στη ρύθμιση της αρτηριακής πίεσης συνδέεται με την λεπτομερή κατανόηση του συστήματος ρενίνης-αγγειοτενσίνης-αλδοστερόνης, της βαζοπρεσί-

νης και του συμπαθητικού νευρικού συστήματος¹⁶. Ωστόσο, κατέστη σαφές στη δεκαετία του 1960 ότι, αν και αυτά τα συστήματα ερμηνεύουν τη φυσιολογία και παθοφυσιολογία που σχετίζεται με οξεία ή χρόνια ελάττωση του δραστικού όγκου αίματος, δεν εξηγούν σαφώς καταστάσεις που συνδέονται με αυτές. Ο ρόλος του «τρίτου παράγοντα», που ονομάστηκε έτσι επειδή ήταν ένας παράγοντας εκτός από την αλδοστερόνη και τον ρυθμό σπειραματικής διήθησης (GFR) για την νεφρική ρύθμιση του νατρίου, έχει αναθεωρηθεί. Σε ένα κλασικό του άρθρο ο De Wardener ανέφερε ότι η νατριούρηση που προκαλείται από έγχυση φυσιολογικού ορού διατηρείται ακόμη και αν η νεφρική πίεση αιμάτωσης και ο GFR παραμένουν σταθεροί¹⁷. Οι Kramer και Gonick έδειξαν αργότερα ότι η αύξηση του εξωκυττάριας όγκου στα ποντίκια προκαλεί την παραγωγή μίας ουσίας η οποία αναστέλλει την δραστηριότητα της ΑΤΡάσης στο νεφρό αρουραίων¹⁸. Οι Overbeck και συν., ανέφεραν ότι η δραστηριότητα της αντλίας Na⁺/K⁺ (ευαίσθητη στην ουαμπαΐνη) στις αρτηρίες και τις φλέβες των υπερτασικών σκύλων με χαμηλή συγκέντρωση ρενίνης, μειώνεται σημαντικά¹⁹. Λίγο αργότερα, οι Hamlyn και συν. έδειξαν ότι η αναστολή της δράσης της Na⁺/K⁺-ΑΤΡάσης συσχετίζονταν θετικά με την αρτηριακή πίεση σε ασθενείς με ιδιοπαθή υπέρταση⁴.

Ο ενθουσιασμός της δεκαετίας του 1960 και του 1970 για τον ρόλο της Na⁺/K⁺-ΑΤΡάσης περιορίστηκε κατά τη διάρκεια της δεκαετίας του 1980 και του 1990, λόγω αντιφατικών αποτελεσμάτων των μελετών, το πιο σημαντικό ήταν η απουσία της νατριουρητικής δράσης της δακτυλίτιδας σε ουραμικούς ασθενείς. Παρόλα αυτά το ενδιαφέρον για τη μελέτη των CTS αυξήθηκε σταθερά κατά την τελευταία δεκαετία για διάφορους λόγους. Συγκεκριμένα, η ουαμπαΐνη έχει ανιχνευθεί στο ανθρώπινο πλάσμα και / ή στα ούρα (επίπεδα στο πλάσμα περίπου 200-1.500 pM). Είναι μια πολική ένωση με χαμηλό μοριακό βάρος (>300 και <900 g/mol). Όλο το ενδιαφέρον εστιάζεται σε 2 οδούς μέσω των οποίων η σύνδεση των CTS με την Na⁺/K⁺-ΑΤΡάση ασκεί μη γονιδιωματικές δράσεις (Εικ. 2)^{20,21}.

Ενδογενής ουαμπαΐνη

Οι Hamlyn και συν. ανέφεραν ότι το ανθρώπινο πλάσμα περιέχει CTS δυσδιάκριτο από την ουαμπαΐνη⁵ και ο φλοιός των επινεφριδίων και ο υπο-



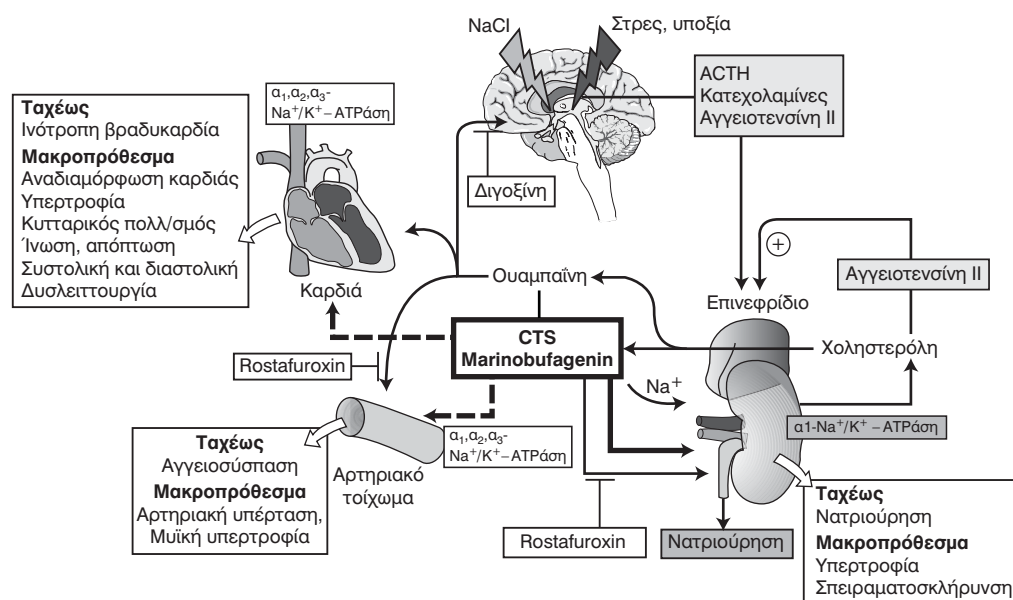
Εικ. 2. Οι 2 οδοί μέσω των οποίων η σύνδεση των CTS με την $Na^+/K^+-ATPάση$ ασκεί γονιδιακή και μη γονιδιακή δράση.

θάλαμος θεωρούνται τα σημεία παραγωγής της ενδογενούς ουαμπαίνης. Η ACTH, η αγγειοτενσίνη II, η βαζοπρεσίνη και η φαινυλεφρίνη διευκολύνουν την απελευθέρωση in vitro της ενδογενούς ουαμπαίνης από τον φλοιό των επινεφριδίων¹⁰ (Εικ. 3).

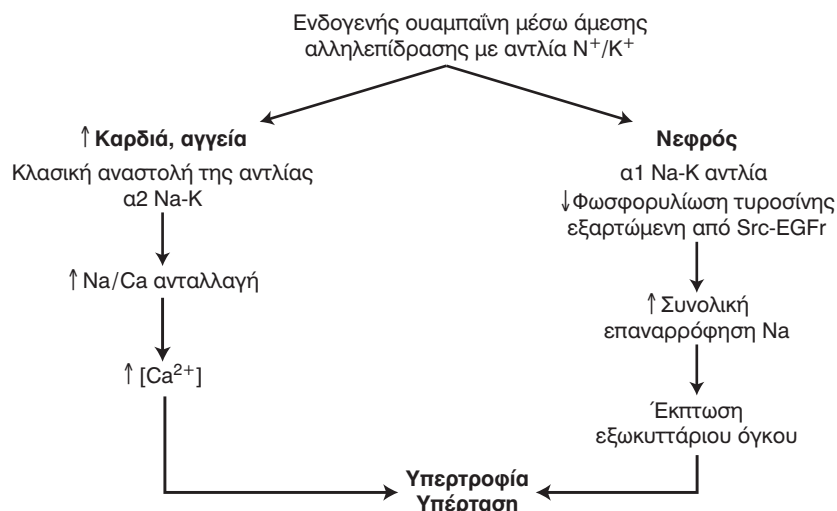
Υπάρχουν δεδομένα που υποδηλώνουν ότι η ενδογενής ουαμπαίνη δεν πληρεί τα κριτήρια νατριουρητικής ορμόνης αλλά έχει σημαντικό ρόλο στην αποκατάσταση ισορροπίας, τόσο σε έλλειμμα, όσο και σε περίσσεια άλατος. Μελέτες σε πειραματικά μοντέλα νορμοτασικά ή υπερτασικά για

τα επίπεδα της ουαμπαίνης, έδωσαν αντιφατικά αποτελέσματα^{21,22}.

Παρά την έλλειψη αποδεικτικών στοιχείων για τη νατριουρητική δράση της ουαμπαίνης, υπάρχουν πειραματικά δεδομένα που έδειξαν σαφώς προ-υπερτασικό ρόλο της. Στους αρουραίους, η χρόνια έγχυση χαμηλών δόσεων της ουαμπαίνης (10-50 $\mu g/kg/ημέρα$) σχετίστηκε με ανάπτυξη υπέρτασης και καρδιακής υπερτροφίας¹⁰. Τρεις μηχανισμοί εξηγούν τη σύνδεση ουαμπαίνης και αγγειοσυστολής στην υπέρταση. Ο πρώτος αφορά το



Εικ. 3. Απελευθέρωση ενδογενούς ουαμπαίνης από τον φλοιό των επινεφριδίων.



Εικ. 4. Οι οδοί της ενδογενούς ουαμπαΐνης.

παράδειγμα της αδουκίνης (adducin) μίας ετεροδιμερούς πρωτεΐνης του κυτταροσκελετού, της οποίας μεταλλάξεις προκαλούν διέγερση της δραστηριότητας της Na^+/K^+ -ΑΤΡάσης στα νεφρικά σωληναριακά κύτταρα, με αύξηση της επαναρρόφησης Na^+ και υπέρταση. Άλλοι πιθανοί μηχανισμοί είναι η ύπαρξη υψηλής ευαισθησίας θέσεων σύνδεσης της ουαμπαΐνης στις λείες μυϊκές ίνες των αγγείων και κεντρικές δράσεις. Στην εικόνα 4 φαίνονται οι οδοί της ενδογενούς ουαμπαΐνης. Ο Haupert και συν. περιέγραψαν μια συγκεκριμένη οδό για τη βιοσύνθεση της ουαμπαΐνης στον υποθάλαμο υπερθασικών αρουραίων η οποία δεν εντοπίστηκε στον φλοιό των επινεφριδίων. Φαίνεται επομένως ότι στην νατριοευαίσθητη υπέρταση η ουαμπαΐνη φαίνεται να λειτουργεί ως κεντρικός και όχι ως περιφερικός ρυθμιστής²³.

Κυτταρική σηματοδότηση

Το πρώτο από τα κλασικά μοντέλα που προσπάθησαν να εξηγήσουν την αλληλεπίδραση των ενδογενών CTS με την Na^+/K^+ -ΑΤΡάση βασίστηκε στην παρατήρηση ότι πολλοί CTS αναστέλλουν τις ενζυμικές και μεταφορικές λειτουργίες της²⁴. Ενδιαφέρουσες έρευνες έχουν γίνει επίσης για τη σχέση μεταξύ σηματοδότησης μέσω της Na^+/K^+ -ΑΤΡάσης και κυτταρικού θανάτου²⁵. Ειδικότερα, έχει αποδειχθεί ότι οι υψηλές συγκεντρώσεις της ουαμπαΐνης προκαλούν ένα «σήμα θανάτου» στα ενδοθηλιακά κύτταρα, ανεξάρτητο από τη λειτουργία της Na^+/K^+ -ΑΤΡάσης²⁵. Οι παραπάνω αλληλεπιδράσεις μεταξύ σηματοδότησης μέσω Na^+/K^+ -ΑΤΡάσης και του κυτταρικού θανάτου

φαίνεται ότι είναι περίπλοκη διαδικασία που εξαρτάται και από τον τύπο των κυττάρων²⁶. Ας σημειωθεί επίσης ότι εκτός από τα «σήματα κυτταρικού θανάτου», η Na^+/K^+ -ΑΤΡάση συμμετέχει σε μια ποικιλία βιολογικών λειτουργιών συμπεριλαμβανομένης της κυτταρικής προσκόλλησης και της διαφοροποίησης^{27,28}.

Συμπεράσματα

Μελέτες των τελευταίων 10 ετών έδειξαν πολλές σημαντικές αλληλεπιδράσεις πρωτεϊνών της Na^+/K^+ -ΑΤΡάσης αλλά απαιτούνται περαιτέρω έρευνες. Είναι σημαντικό μέχρι σήμερα ότι είναι γνωστά πολύ λίγα για την λειτουργία της Na^+/K^+ -ΑΤΡάσης, τη σχέση της με τις σηματοδοτικές οδούς και τη ρύθμιση των κυτταρικών λειτουργιών που προκαλούν. Οι συνεχείς προσπάθειες θα διευκρινίσουν τελικά τις λειτουργίες της Na^+/K^+ -ΑΤΡάσης και του ρόλου της στην κυτταρική βιολογία και στη φυσιολογία των ζώων. Πολλά απομένουν προκειμένου να καθορισθεί η πορεία βιοσύνθεσης της ενδογενούς ουαμπαΐνης στον άνθρωπο. Αναμένεται όμως η έκκριση και ο μηχανισμός ομοιόστασής της.

Summary

Endogenous ouabain signalling pathways and sodium diuresis. I. Griveas¹, P. Pasadakis², N. Papagalanis³. ¹Department of Nephrology, 401 General Military Hospital, Athens, Greece, ²School of Medicine, Dimokrition University of Trace, Alexandroupoli, Greece, ³Department of Nephrology, Ge-

neral Hospital «Korgialencio-Benakeio», Athens, Greece. *Hellenic Nephrology* 2012; 24 (3): 167-173.

This review refers to endogenous ouabain, which belongs to endogenous cardiotonic steroids (CTS) and cell signaling. CTS, are also known as digitalis-like factors, or inhibitors of Na⁺/K⁺-ATPase. These CTS link dietary NaCl and cardiovascular and renal disease. Although the existence and the importance of these factors has been a matter of controversy, remarkable progress has been achieved during the past 15 years. Plasma levels of digitalis-like factors are high in approximately 40% of untreated patients with essential hypertension. Digitalis-like factors mediates sodium retention by increasing the activity and expression of the renal sodium pump. Studies in the past 10 years have identified many important protein interactions of the Na⁺/K⁺-ATPase, which, only mark the beginning of a fascinating new field. To date we know little about the relation between the ion-transporting function of Na⁺/K⁺-ATPase and signaling mechanisms in the regulation of these cell functions.

Key words: hypertension, ouabain, sodium pump.

Βιβλιογραφία

- Goto A, Yamada K, Yagi N, Yoshioka M, Sugimoto T. Physiology and pharmacology of endogenous digitalis-like factors. *Pharmacol Rev* 1992; 44: 377-399.
- Schoner W, Scheiner-Bobis G. Endogenous and exogenous cardiac glycosides: their roles in hypertension, salt metabolism, and cell growth. *Am J Physiol Cell Physiol* 2007; 293: 509-536.
- Ling G. History of the membrane (pump) theory of the living cell from its beginning in mid-19th century to its disproof 45 years ago through still taught worldwide today as established truth. *Physiol Chem Phys Med NMR* 2007; 39: 1-67.
- Hamlyn JM, Ringel R, Schaeffer J, et al. A circulating inhibitor of Na⁺/K⁺-ATPase associated with essential hypertension. *Nature* 1982; 300: 650-652.
- Hamlyn JM, Blaustein MP, Bova S, et al. Identification and characterization of a ouabain-like compound from human plasma. *Proc Natl Acad Sci USA* 1991; 88: 1916-1919.
- Skou JC, Esmann M. The Na⁺/K⁺-ATPase. *J Bioenerg Biomembr* 1992; 24: 249-261.
- Blaustein MP. Physiological effects of endogenous ouabain: control of intracellular Ca²⁺ stores and cell responsiveness. *Am J Physiol* 1993; 264: 1367-1387.
- Blanco G, Mercer RW. Isoenzymes of the Na⁺/K⁺-ATPase: heterogeneity in structure, diversity in function. *Am J Physiol* 1998; 275: 633-650.
- Sweater KJ, Rael E. The FXYD gene family of small ion transport regulators or channels: cDNA sequence, protein signature sequence, and expression. *Genomics* 2000; 68: 41-56.
- Bagrov AY, Shapiro JJ, Fedorova OV. Endogenous cardiotonic steroids: physiology, pharmacology, and novel therapeutic targets. *Pharmacol Rev* 2009; 61: 9-38.
- Adams RJ, Schwartz A, Grupp G, et al. High affinity ouabain binding site and low-dose positive inotropic effect in rat myocardium. *Nature* 1982; 296: 167-169.
- Marks MJ, Seeds NW. A heterogeneous ouabain-ATPase interaction in mouse brain. *Life Sci* 1978; 23: 2735-2744.
- Franzin CM, Yu J, Thai K, Choi J, Marassi FM. Correlation of gene and protein structures in the FXYD family proteins. *J Mol Biol* 2005; 354: 743-750.
- Burns EL, Nicholas RA, Price EM. Random mutagenesis of the sheep Na⁺/K⁺-ATPase α 1 subunit generating the ouabain-resistant mutant. *J Biol Chem* 1996; 271: 15879-15883.
- Akimova OA, Hamet P, Orlov SN. Na⁺/K⁺-independent death of ouabain-treated renal epithelial cells is not mediated by Na⁺/K⁺-ATPase internalization and de novo gene expression. *Pflugers Arch* 2008; 455: 711-719.
- Shrier RW. Effects of adrenergic nervous system and catecholamines on systemic and renal hemodynamics, sodium and water excretion and renin secretion. *Kidney Int* 1974; 6: 291-306.
- De Wardener HE, Mills IH, Clapham WF, Hayter CJ. Studies on the efferent mechanism of the sodium diuresis which follows the administration of intravenous saline in the dog. *Clin Sci* 1961; 21: 249-258.
- Kramer HJ, Gonick HC. Effect of extracellular volume expansion on renal Na⁺/K⁺-ATPase and cell metabolism. *Nephron* 1974; 12: 281-296.
- Overbeck HW, Pamnani MB, Akera T, Broby TM, Haddy FJ. Depressed function of a ouabain-sensitive sodium-potassium pump in blood vessels from renal hypertensive dogs. *Circ Res* 1976; 38: 48-52.
- Pierre S, Xie Z. The Na⁺/K⁺-ATPase receptor complex: its organization and membership. *Cell Biochem Biophys* 2006; 46: 303-316.
- Balzan S, Nicolini G, Iervasi A, Di Cecco P, Fommei E. Endogenous ouabain and acute salt loading in low-renin hypertension. *Am J Hypertens* 2005; 18: 906-909.
- Butt AN, Semra YK, Ho CS, Swaminathan R. Effect of high salt intake on plasma and tissue concentration of endogenous ouabain-like substance in the rat. *Life Sci* 1997; 61: 2367-2373.
- Murrell JR, Randall JD, Rosoff J, et al. Endogenous ouabain: upregulation of steroidogenic genes in hypertensive hypothalamus but not adrenal. *Circulation* 2005; 112: 1301-1308.
- Klein M, Nejad NS, Lown B, Hagemeyer F, Barr I. Correlation of the electrical and mechanical changes in the dog heart during progressive digitalization. *Circ Res* 1971; 29: 635-645.
- Orlov SN, Hamet P. Apoptosis vs. oncosis: role of cell volume and intracellular monovalent cations. *Adv Exp Med Biol* 2004; 559: 219-233.
- Newman RA, Yang P, Pawlus AD, Block KI. Cardiac glycosides as novel cancer therapeutic agents. *Mol Interv* 2008; 8: 36-49.

27. Larre I, Ponce A, Fiorentino R, Shoshani L, Contreras RG, Cereijido M. Contracts and cooperation between cells depend on the hormone ouabain. Proc Natl Acad Sci USA 2006; 103: 10911-10916.
28. Mohmand B, Malhotra DK, Shapiro JF. Uremic cardiomyopathy: role of circulating digitalis like substances. Front Biosci 2005; 10: 2036-2044.

* Παρελήφθη στις 12/3/12

Έγινε αποδεκτή μετά από τροποποιήσεις στις 28/5/12

* Received for publication 12/3/12

Accepted in revised form 28/5/12

Αλληλογραφία:

Ι. Γριβέας

Γορτυνίας 12, Πάτημα Χαλανδρίου

152 38 Αθήνα

Κιν.: 6932 379323