

Ενδογενείς Καρδιοτονωτικές Γλυκοσίδες: Ο παθογενετικός τους ρόλος στην Υπέρταση

Ι. Κουλουρίδης¹,
Ε. Κουλουρίδης²

¹ Ειδικευόμενος Ιατρός Β' Παθολογικής
Κλινικής Γ.Ν. Κέρκυρας.

² Παθολόγος-Νεφρολόγος,
Δ/ντής Νεφρολογικού Τμήματος Γ.Ν.
Κέρκυρας.

ΠΕΡΙΛΗΨΗ. Οι Ενδογενείς καρδιοτονωτικές γλυκοσίδες (ΕΚΓ) είναι ενδογενείς ουσίες που παράγονται από τα επινεφρίδια υπό συνθήκες επέκτασης του εξωκυττάριου όγκου υγρού. Η δομή και η λειτουργία αυτών των ουσιών είναι παρόμοιες με τις φυτικές προέλευσης καρδιοτονωτικές γλυκοσίδες που προέρχονται από τις εγκαταστάσεις. Η κύρια βιολογική δράση των ΕΚΓ είναι η παρεμπόδιση της δράσης της Νατριο-Κάλιο ΑΤΡάσης (Na/K-ATPase). Η παρεμπόδιση της Na/K-ATPase αυξάνει την ενδοκυτταρική συγκέντρωση νατρίου και προκαλεί προς τα έσω ροή των ιόντων ασβεστίου που ενεργούν ως δεύτερος αγγελιοφόρος, σε κυτταρικό επίπεδο, και οδηγούν σε σύσπαση των λείων μυών των αγγείων, αύξηση της περιφερειακής αγγειακής αντίστασης και υπέρταση. Ο κύριος τελεολογικός στόχος της ανασταλτικής δράσης της Na/K-ATPase είναι η μείωση της επαναρρόφησης του νατρίου στο επίπεδο των νεφρικών σωληναρίων. Το τελικό αποτέλεσμα της υπέρτασης είναι το τίμημα, που πληρώνουμε προκειμένου να διατηρηθεί σταθερός ο εξωαγγειακός όγκος. Στα θηλαστικά και τον άνθρωπο έχουν περιγραφεί δύο κύριες κατηγορίες ΕΚΓ: οι Καρδενολίδες (Ouabain και Digoxin) και οι Βουφαδιενολίδες (Marinobufagenin, Telocinobufagin και 19Norbufalin).

ΕΙΣΑΓΩΓΗ – ΙΣΤΟΡΙΚΗ ΑΝΑΔΡΟΜΗ

Το 1952 οι Tobian και Binion δημοσίευσαν μία μελέτη, βασισμένη σε νεκροτομικό υλικό, στην οποία ανέφεραν ότι η περιεκτικότητα σε νάτριο των νεφρικών αρτηριών Υπερτασικών ανθρώπων ήταν μεγαλύτερη από αυτή των Νορμοτασικών¹. Η πρόδρομη αυτή ανακοίνωση έμελλε να αποτελέσει τον προάγγελο μιας εξαιρετικά ογκώδους ερευνητικής δουλειάς η οποία σκοπό είχε να μελετήσει την επίδραση του νατρίου στην Αρτηριακή Υπέρταση και συγκεκριμένα την σχέση του ενδοκυττάριου νατρίου με τις λειτουργικές και δομικές μεταβολές του τοιχώματος των αγγείων αντίστασης που παρατηρούνται στην εγκατεστημένη υπέρταση.

Πενήντα έξι χρόνια μετά την πρόδρομη αυτή ανακοίνωση γνωρίζουμε, πλέον, πολύ καλά ότι τα υπερτασικά άτομα παρουσιάζουν αυξημένη πυκνότητα ενδοκυττάριου νατρίου η οποία ελέγχεται στα λευκά αιμοσφαίρια, στα ερυθροκύτταρα και στις λείες μυϊκές ίνες του τοιχώματος των αγγείων αντίστασης².

Η πρωταρχική αιτία (single effect) η οποία είναι υπεύθυνη για την αυξημένη συγκέντρωση ενδοκυττάριου νατρίου στα υπερτασικά άτομα και ο μηχανισμός με τον οποίο η διαταραχή αυτή συνδέεται με την εμφάνιση της υπέρτασης και την παρατηρούμενη υπερτροφία του μέσου χιτώνα των αγγείων αντίστασης και της αριστερής κοιλίας αποτελεί μέχρι σήμερα αντικείμενο μελέτης.

Η πρώτη προσπάθεια μελέτης της αυξημένης ενδοκυττάριας συγκέντρωσης νατρίου στα υπερτασικά άτομα έγινε από τον Wessels και συν³. το 1967. Στην μελέτη αυτή διαπιστώθηκε ότι ο ρυθμός εισόδου του νατρίου στα ερυθροκύτταρα υπερτασικών ατόμων ήταν αυξημένος σε σχέση με τους νορμοτασικούς. Στην συνέχεια αποδείχθηκε ότι η αρτηριακή υπέρταση συνοδεύεται από συγκεκριμένη διαταραχή στην κατανομή των κατιόντων εκατέρωθεν της κυτταρικής μεμβράνης (cation imbalance) η οποία συνίσταται σε αύξηση της ενδοκυττάριας συγκέντρωσης νατρίου (iNa^+), αύξηση της ενδοκυττάριας συγκέντρωσης ασβεστίου (iCa^{++}) και μείωση της ενδοκυττάριας συγκέντρωσης καλίου (iK^+), η διαταραχή αυτή απαντάται τόσο στα πειραματικά μοντέλα υπέρτασης όσο και στον άνθρωπο^{4,5,6}.

Η αύξηση της ενδοκυττάριας συγκέντρωσης νατρίου (iNa^+) έχει αποδοθεί σε δύο, κυρίως, μηχανισμούς:

1. Μειωμένη έξοδο νατρίου από το κύτταρο, οφειλόμενη σε μειωμένη δραστηριότητα του ενζυμικού συστήματος της Na-K-ATPάσης και
2. Αυξημένη είσοδο νατρίου στο κύτταρο λόγω αυξημένης διαβατότητας της κυτταρικής μεμβράνης στο νάτριο.

Ο πρώτος μηχανισμός απαντάται κυρίως στο μοντέλο υπέρτασης με ένα νεφρό και ένα "κλίπ" (one - kidney, one - clip hypertension) και στο μοντέλο υπέρτασης με μειωμένη νεφρική μάζα και χορήγηση άλατος (reduced renal mass - saline hypertension) και συνοδεύεται κατά κανόνα από αυξημένο εξωκυττάριο όγκο και χαμηλή δραστηριότητα ρενίνης πλάσματος (PRA). Ο δεύτερος μηχανισμός απαντάται στα "αυτομάτως υπερτασικά ποντίκια" (spontaneously hypertensive rats, SHR), στα νατριοευαίσθητα ποντίκια του Dahl (Dahl salt-sensitive rat) και στα μοντέλα υπέρτασης μετά από χορήγηση Δεσοξυκορτικοστερόνης και άλατος (DOCA - salt hypertension).^{6,7}

Η αυξημένη συγκέντρωση ενδοκυττάριου νατρίου είναι υπεύθυνη για την αύξηση του ελεύθερου κυτταροπλασματικού ασβεστίου το οποίο, με την σειρά

του, προκαλεί αύξηση της διεγερσιμότητας των λείων μυϊκών ινών των αγγείων αντίστασης με αποτέλεσμα την αύξηση των περιφερικών αντιστάσεων και την εμφάνιση υπέρτασης.

Η αυξημένη ενδοκυττάρια συγκέντρωση νατρίου είναι δυνατόν να προκαλέσει αύξηση της ενδοκυττάριας συγκέντρωσης ασβεστίου με δύο μηχανισμούς:

1. Η αυξημένη ενδοκυττάρια συγκέντρωση νατρίου προκαλεί μείωση του δυναμικού ηρεμίας της κυτταρικής μεμβράνης προς την κατεύθυνση της εκπόλωσης με αποτέλεσμα την ενεργοποίηση των εκ του δυναμικού της μεμβράνης ενεργοποιούμενων διόδων ασβεστίου (potential operated channels) και ως εκ τούτου αύξηση της πιθανότητας εισόδου ασβεστίου από τον εξωκυττάριο προς τον ενδοκυττάριο χώρο. Ο μηχανισμός αυτός έχει προταθεί από τους Haddy και Overbeck⁸.

2. Η αυξημένη ενδοκυττάρια συγκέντρωση νατρίου έχει σαν αποτέλεσμα την μείωση της διαφοράς συγκέντρωσης νατρίου μεταξύ ενδοκυττάριου και εξωκυττάριου χώρου (ΔNa^+) η οποία, ως γνωστόν, αποτελεί την κινούσα δύναμη για την ενεργοποίηση του συστήματος αντιμεταφοράς νατρίου-ασβεστίου (sodium-calcium exchanger system), με αποτέλεσμα την είσοδο ασβεστίου στο κύτταρο και την αντίστοιχη έξοδο νατρίου ($1Ca^{++} / 3Na^+$). Ο μηχανισμός αυτός έχει προταθεί από τον Blaustein⁹.

Οι δύο παραπάνω αναφερόμενοι μηχανισμοί ευρίσκονται εν ενεργεία σε καταστάσεις που συνδυάζονται με μειωμένη δραστηριότητα του ενζυμικού συστήματος της Na-K-ATPάσης ή σε καταστάσεις όπου η αυξημένη είσοδος νατρίου στο κύτταρο υπερβαίνει την μέγιστη αντλητική ικανότητα του ενζύμου. Πέραν όμως αυτού φαίνεται ότι η υπέρταση συνοδεύεται και από διαταραχή στην δέσμευση και μεταφορά ασβεστίου μέσω της μεμβράνης των λείων μυϊκών ινών των αγγείων η οποία είναι ανεξάρτητη από οποιαδήποτε διαταραχή της δραστηριότητας της Na-K-ATPάσης¹⁰.

Από τα μέχρι τώρα εκτεθέντα γίνεται εμφανής ο κεντρικός ρόλος του νατρίου στην παθογένεια της Αρτηριακής Υπέρτασης. Είναι όμως γνωστό ότι το νάτριο, ως το κατ' εξοχήν εξωκυττάριο ιόν, παίζει σημαντικό ρόλο στην ρύθμιση του εξωκυττάριου όγκου. Είναι επίσης γνωστό ότι το όργανο το οποίο είναι επιφορτισμένο με την διατήρηση σταθερού εξωκυτταρίου όγκου είναι ο νεφρός και ότι η απέκκριση νατρίου από τους νεφρούς παρουσιάζει παράλληλες μεταβολές με αυτές του εξωκυτταρίου όγκου.

Κατόπιν των ανωτέρω δεν είναι περίεργο το γεγονός ότι οι έρευνες στον τομέα αυτό γρήγορα συνδέθηκαν με την μελέτη των μεταβολών του εξωκυτταρίου όγκου και τον ρόλο του νεφρού στην παθογένεια αυτών των μεταβολών και συγκεκριμένα στους μηχανισμούς οι οποίοι διέπουν τον χειρισμό του νατρίου από το νεφρικό

σωληνάριο.

Πρώτος ο Smith, το 1957, διέβλεψε ότι η μειωμένη σωληναριακή επαναρρόφηση νατρίου που παρατηρείται σε άτομα με αυξημένο εξωκυττάριο όγκο πιθανώς να οφείλεται στην παρουσία ενός **νατριουρητικού παράγοντα** ο οποίος παράγεται στον υποθάλαμο¹¹. Σταθμό όμως στην μελέτη αυτού του φαινομένου αποτέλεσε η πειραματική εργασία του de Wardener το 1961, σε σκυλιά, ο οποίος απέδειξε ότι η μεταβολή στην σωληναριακή επαναρρόφηση νατρίου που παρατηρείται επί αυξήσεως του εξωκυτταρίου όγκου είναι φαινόμενο ανεξάρτητο από την μεταβολή του ρυθμού σπειραματικής διήθησης (GFR) και πρέπει να οφείλεται στην επίδραση κάποιας ουσίας με νατριουρητική ικανότητα την οποία ονόμασε **Νατριουρητική Ορμόνη**¹².

Η υπόθεση αυτή έγινε αντικείμενο αμφισβήτησης, για πάρα πολύ καιρό, αλλά τα αποτελέσματα των ερευνών, τόσο από του ίδιους ερευνητές όσο και από άλλους, απέδειξαν πέραν πάσης αμφιβολίας ότι επί διαστολής του εξωκυτταρίου όγκου παράγεται στον οργανισμό, πιθανώς στο υποθάλαμο, κάποια ουσία με νατριουρητική δράση η οποία είναι σε θέση να προκαλεί αύξηση της αρτηριακής πίεσης και αύξηση της ευαισθησίας των λείων μυϊκών ινών στην δράση των αγγειοσυσπαστικών ουσιών¹³.

Υπό το φως των πειραμάτων του de Wardener και των άλλων ερευνητών, ο Guyton και οι μαθητές του, το 1971, διετύπωσαν την άποψη ότι "**η ιδιοπαθής υπέρταση αποτελεί, στην ουσία, μία διαταραχή της ρύθμισης του εξωκυτταρίου όγκου**"¹⁴. Σύμφωνα με την άποψη αυτή η βασική διαταραχή εντοπίζεται στην ανικανότητα του νεφρού να ανταποκριθεί σε καταστάσεις αύξησης του όγκου του πλάσματος ο οποίος οδηγεί σε αυξημένη πίεση πλήρωσης της αριστερής κοιλίας και συνεπώς σε αυξημένη καρδιακή παροχή. Η αυξημένη καρδιακή παροχή, με την σειρά της, οδηγεί σε αύξηση των περιφερικών αντιστάσεων σαν αποτέλεσμα "μακροχρόνιας αυτορύθμισης" της κυκλοφορίας (long-term autoregulation). Ο μηχανισμός όμως αυτής της "αυτορύθμισης" θεωρήθηκε, τότε, ασαφής και αβέβαιος.

Στο μεταξύ οι έρευνες πάνω στην αρχική υπόθεση του de Wardener, για την ύπαρξη της νατριουρητικής ορμόνης, συνεχίστηκαν αμείωτες έως ότου οι Gonick και Cramer, το 1977, απέδειξαν την ύπαρξη μιας ουσίας, στο πλάσμα ποντικών με διαστολή του εξωκυτταρίου όγκου, η οποία αναστέλλει την δράση της Na-K-ATPάσης και προκαλεί αύξηση της αποβολής νατρίου από το εγγύς εσπειραμένο νεφρικό σωληνάριο¹⁵. Στην συνέχεια οι Gruber και συν.¹⁶ απέδειξαν την ύπαρξη μιας ουσίας, στο πλάσμα σκυλιών με διαστολή του εξωκυτταρίου όγκου, η οποία αντιδρούσε με αντισώματα κατά της διγοξίνης και ήταν σε θέση να αναστέλλει (in vitro) την δραστηριότητα της Na-K-ATPάσης στα εγκεφαλικά κύτταρα σκυλιών. Τα

ευρήματα αυτά επιβεβαιώθηκαν και από τους Castaneda-Hernandez και Godfraind¹⁷ αν και πρέπει να αναφερθεί εδώ, για την ιστορία, ότι ο πρώτος που διαπίστωσε την ύπαρξη ουσιών που έδιναν "ψευδώς θετική" ραδιοανοσολογική αντίδραση για την διγοξίνη, στο πλάσμα ορισμένων ασθενών που έπασχαν από χρόνια νεφρική ανεπάρκεια, ήταν ο Belpraire και συν¹⁸. το 1975.

Οι παραπάνω έρευνες, καθώς και πλήθος άλλων που ακολούθησαν, εδραίωσαν πλέον την άποψη ότι στο πλάσμα πειραματόζων και ανθρώπων, με διαστολή του εξωκυτταρίου όγκου, παράγονται ουσίες οι οποίες παρουσιάζουν διασταυρούμενη αντίδραση με αντισώματα έναντι της δακτυλίτιδας και εκδιώκουν την ραδιενεργό σεσημασμένη ουαμπαίνη (³H) ouabain) από τους επιφανειακούς της υποδοχείς στην μεμβράνη των κυττάρων. Οι ουσίες αυτές ονομάστηκαν **Ουσίες με δράση δακτυλίτιδας (Digitalis-Like Substances)** οι οποίες προκαλούν αναστολή της μεταφοράς νατρίου, αναστολή της δραστηριότητας της Na-K-ATPάσης και αύξηση της αντιδραστικότητας του αγγειακού τοιχώματος.

Κατόπιν των ανωτέρω οι de Wardener και MacGregor, έχοντας κατά νου την άποψη των Borst και Borst de Geus¹⁹ ότι, δηλαδή, η ρύθμιση της απέκκρισης νατρίου από τους νεφρούς είναι θεμελιώδους σημασίας για την ρύθμιση της αρτηριακής πίεσης, διατύπωσαν την άποψη ότι **η βασική διαταραχή στη ιδιοπαθή υπέρταση πιθανώς να είναι μία κληρονομούμενη αδυναμία των νεφρών να αποβάλουννάτριο**²⁰.

Σύμφωνα με την άποψη αυτή η αδυναμία των νεφρών να αποβάλουν το προσλαμβανόμενο ποσόν νατρίου οδηγεί σε χρόνια έκπτυξη του εξωκυτταρίου όγκου με αποτέλεσμα την υπερπαραγωγή των ουσιών με δράση δακτυλίτιδας (DLS), οι οποίες με την σειρά τους προκαλούν περιφερική αγγειοσύσπαση και αύξηση της αρτηριακής πίεσης. Η παρουσία των DLS, στον ορό, και η αυξημένη αρτηριακή πίεση, μέσω του μηχανισμού *πίεσης-νατριούρησης*, σκοπό έχουν την αύξηση της απέκκρισης νατρίου από τους νεφρούς, προκειμένου να διατηρηθεί σταθερός ο όγκος του πλάσματος. Τελικά ο στόχος αυτός επιτυγχάνεται αλλά το τίμημα που πληρώνει ο οργανισμός είναι η Υπέρταση.

Η θεωρία αυτή προδικάζει ότι αυξημένα επίπεδα DLS πρέπει να ανευρίσκονται σε υπερτασικούς με χαμηλή δραστηριότητα ρενίνης πλάσματος, αφού είναι γνωστό ότι η χαμηλή δραστηριότητα ρενίνης συνοδεύει καταστάσεις με αυξημένο εξωκυττάριο όγκο. Πράγματι υπάρχουν μελέτες, σε άτομα πάσχοντα από ιδιοπαθή υπέρταση, όπου διαπιστώθηκε η ύπαρξη αντίστροφης σχέσης μεταξύ των επιπέδων των DLS, στον ορό, και της δραστηριότητας της ρενίνης πλάσματος^{21,22,23,24}.

Σε αντίθεση με τα παραπάνω ευρήματα ο Deraay και συν. διαπίστωσαν την παρουσία αυξημένων επιπέδων DLS στον ορό πασχόντων από ιδιοπαθή υπέρταση, από

χρόνια νεφρική ανεπάρκεια αλλά και στον ορό φυσιολογικών ατόμων με θετικό οικογενειακό ιστορικό υπέρτασης. Στην μελέτη αυτή διαπιστώθηκε η ύπαρξη θετικής συσχέτισης μεταξύ επιπέδων DLS και απέκκρισης νατρίου από τους νεφρούς όχι όμως και μεταξύ επιπέδων DLS και αρτηριακής πίεσης²⁵.

Το εύρημα αυτό υποδηλώνει ότι πιθανώς οι ουσίες με δράση δακτυλίτιδας δεν προκαλούν από μόνες τους υπέρταση αλλά μάλλον αποτελούν ένα γενετικό στίγμα κάποιου κληρονομούμενου χαρακτήρα ο οποίος προδιαθέτει στην ανάπτυξη υπέρτασης. Η άποψη αυτή ενισχύεται από το γεγονός ότι διαπιστώνεται η παρουσία αυξημένων επιπέδων DLS στον ορό πειραματόζων μετά από χορήγηση δεσοξυκορτικοστερόνης και άλατος (DOCA-salt hypertension models), πριν από την εμφάνιση υπέρτασης²⁶. Επίσης έχει διαπιστωθεί η παρουσία αυξημένων επιπέδων DLS στο πλάσμα νατριοευαίσθητων ποντικών του Dahl (Dahl salt-sensitive rats) σε σχέση με τα νατριοανθεκτικά στελέχη (Dahl salt-resistant rats), με χαμηλή πρόσληψη νατρίου, πριν από την εμφάνιση υπέρτασης²⁷.

ΔΙΕΥΚΡΙΝΙΣΗ ΤΗΣ ΔΟΜΗΣ ΚΑΙ ΤΗΣ ΦΥΣΗΣ ΤΩΝ ΟΥΣΙΩΝ ΜΕ ΔΡΑΣΗ ΔΑΚΤΥΛΙΤΙΔΑΣ

Πολλές ομάδες ερευνητών προσπάθησαν να απομονώσουν και να διευκρινίσουν την φύση των ουσιών με δράση δακτυλίτιδας χρησιμοποιώντας πλάσμα, ούρα, αμνιακό υγρό, εγκεφαλονωτιαίο υγρό, εκχυλίσματα υποθαλάμου και επινεφριδίων. Σταχυολόγηση των προσπαθειών αυτών παρατίθεται στην συνέχεια κατά χρονολογική σειρά.

Οι Clarkson, Raw και de Wardener, το 1976, χρησιμοποιώντας εκχυλίσματα ούρων φυσιολογικών ανθρώπων, υπό ένδεια και στην συνέχεια υπό φόρτιση νατρίου, απομόνωσαν δύο νατριουρητικούς παράγοντες, έναν μεγάλου μοριακού βάρους (the large molecular weight substance), περίπου 50.000 daltons και έναν μικρού μοριακού βάρους (the small molecular weight substance), περίπου 500 daltons²⁸. Οι ερευνητές αυτοί διαπίστωσαν ότι η χορήγηση του μεγάλου μοριακού βάρους παράγοντα προκαλούσε καθυστερημένη νατριούρηση μεγάλης όμως διάρκειας ενώ αντίθετα η χορήγηση του μικρού μοριακού βάρους παράγοντα προκαλούσε άμεση εμφάνιση νατριούρησης μικρής χρονικής διάρκειας, γι' αυτό και διατύπωσαν την άποψη ότι ο μεγάλου μοριακού βάρους παράγοντας πιθανώς αποτελεί πρόδρομη ουσία του μικρού.

Το 1986 οι Kelly και συν., μελετώντας πλάσμα αιμοδοτών από τράπεζες αίματος, απομόνωσαν τρία κλάσματα με δράση δακτυλίτιδας των οποίων η σύσταση, κατά κύριο λόγο, αποτελούνταν από λυσοφωσφατιδύλ-

χολίνη (LPC) και ελεύθερα λιπαρά οξέα (FFA), δεν κατορθώθηκε δηλαδή να απομονωθεί ένας ενιαίος νατριουρητικός παράγοντας. Τα ίδια αποτελέσματα είχαν και οι Tamura και συν. χρησιμοποιώντας πλάσμα χοίρων.^{29,30}

Τα αποτελέσματα αυτών των πειραμάτων δεν αποτελούν έκπληξη επειδή ήταν ήδη γνωστό από το 1971, από τα πειράματα των Ahmed και Thomas, ότι τα μακράς αλύσειωσ λιπαρά οξέα αναστέλλουν την δράση της Na-K-ATPάσης όχι με δέσμευση των υποδοχέων δακτυλίτιδας αλλά τροποποιώντας την "ρευστότητα" (fluidity) της κυτταρικής μεμβράνης³¹.

Τα πειράματα αυτά θεωρούνται σημαντικά επειδή αφ' ενός μεν έγινε αντιληπτό ότι πολλά από τα μέχρι τότε αποτελέσματα προφανώς ήταν επηρεασμένα από την επίδραση των εν λόγω λιπιδίων στην δράση της Na-K-ATPάσης, αφ' ετέρου δε αναπτύχθηκαν στην συνέχεια μέθοδοι αποχωρισμού της LPC και των FFA από τον ορό με αποτέλεσμα τα μετέπειτα ευρήματα να θεωρούνται περισσότερο αξιόπιστα σε ότι αφορά την δραστηριότητα του νατριουρητικού παράγοντα στα υπό μελέτη υλικά.

Κατόπιν των ανωτέρω οι προσπάθειες των ερευνητών στράφηκαν προς την κατεύθυνση της απομόνωσης ενός μη λιποειδικού παράγοντα με δράση δακτυλίτιδας και το ερώτημα που τέθηκε ήταν, εάν πράγματι υπάρχει ένας τέτοιος παράγοντας. Τα αποτελέσματα των ερευνών που ακολούθησαν έδωσαν θετική απάντηση σ' αυτό το ερώτημα και συγκεκριμένα οι Cloix και συν. απομόνωσαν από τα ούρα ένα **γλυκοστεροειδές**, μοριακού βάρους 431 daltons, το οποίο ήταν σε θέση να αναστέλλει την δραστηριότητα της αντλίας νατρίου στη κυτταρική μεμβράνη.³² Οι Lichtstein και συν. απομόνωσαν μία γλυκοσίδη με δράση DLS, από το δέρμα και το πλάσμα βατράχων, της οποίας ο συντακτικός τύπος ήταν: 3-υδροξύ-14,15-επόξυ-20,22-διενολίδη και η οποία παρομοιάστηκε με τις μπουφοτοξίνες που χρησιμοποιούν τα αμφίβια αυτά για προστασία από τα αρπακτικά, οι ίδιοι συγγραφείς υπέθεσαν ότι ένα παρόμοιο στεροειδές συντίθεται και στα θηλαστικά.³³ Τέλος οι Neufield και συν. απομόνωσαν, από τα ούρα υπερτασικών, έναν αναστολέα της Na-K-ATPάσης, με χαρακτηριστικές δικυκλικής ενόνης, ο οποίος προσδιορίστηκε ως μία **ουροδιολενόνη**, και παρομοιάστηκε με τις φυτοαλεξίνες που παράγουν ορισμένα είδη φυτών και μαλακών κοραλιών.³⁴

Από τα μέχρι τώρα εκτεθέντα γίνεται εμφανές ότι πράγματι ο αμιγής, μη λιποειδικός, νατριουρητικός παράγοντας που απομονώθηκε από το πλάσμα και τα ούρα είναι μία **γλυκοσίδη** της οποίας η δομή είναι παρόμοια με αυτήν της διγοξίνης και έχει την ίδια με αυτήν ικανότητα να αναστέλλει την ενζυμική δραστηριότητα της Na-K-ATPάσης των κυτταρικών μεμβρανών.

Σήμερα γνωρίζουμε ότι τα θηλαστικά και ο άνθρωπος

έχουν την δυνατότητα παραγωγής στους ιστούς τους, κυρίως στα επινεφρίδια, πληθώρας ουσιών με δράση καρδιοτονωτικών γλυκοσιδών που ανήκουν στις οικογένειες των **Καρδενολιδών** και των **Μπουφαδιενολιδών**. Στις καρδενολίδες ανήκουν η Ουαμπαΐνη και η Διγοξίνη και στις μπουφαδιενολίδες η Μαρινομπουφαγενίνη (Marinobufagenin), η Τελοσινομπουφαγίνη (Telocinobufagin) και η 19-Νορμπουφαλίνη (19-Norbufalin)³⁵. Σε ότι αφορά τον άνθρωπο έχουν απομονωθεί ενδογενείς καρδιοτονωτικές γλυκοσίδες από τον υποθάλαμο, την καρδιά, φακούς με καταρράκτη και τα επινεφρίδια.

Τα πρόδρομα μόρια των εν λόγω ουσιών, στα επινεφρίδια, είναι η πρεγνενολόνη και η προγεστερόνη, γεγονός που τοποθετεί τις ενδογενείς καρδιοτονωτικές γλυκοσίδες στην ομάδα των στεροειδών ορμονών. Έχει αποδειχθεί πειραματικά η παραγωγή των ενδογενών γλυκοσιδών από επινεφριδιακά κύτταρα χρησιμοποιώντας ως πρόδρομες ουσίες οξικό οξύ (δότης ατόμων άνθρακος) ή/και χοληστερόλη. Η προσθήκη Μεβαστατίνης μείωσε δραματικά την παραγωγή γλυκοσιδών από τις ιστοκαλλιέργειες αποδεικνύοντας έτσι ότι το μόριο της χοληστερόλης αποτελεί κομβικό σημείο στην σύνθεση ενδογενών γλυκοσιδών από τα επινεφρίδια³⁶.

Τα αποτελέσματα των μέχρι σήμερα μελετών δείχνουν ότι τα κύτταρα του φλοιού των επινεφριδίων είναι σε θέση να συνθέσουν και να διοχετεύσουν στην κυκλοφορία ενδογενή Ουαμπαΐνη και μαρινομπουφαγενίνη. Η παραγωγή των εν λόγω ουσιών αυξάνεται από την επινεφρίνη, την αγγειοτενσίνη II και την ACTH καθώς επίσης και από την φυσική άσκηση, την υποξία και το ψυχικό στρες³⁵.

Αναπάντητο παραμένει το ερώτημα με ποιο τρόπο αυξάνει την παραγωγή ενδογενών γλυκοσιδών η αυξημένη πρόσληψη νατρίου. Στην προκειμένη περίπτωση φαίνεται ότι η ρύθμιση της έκκρισης των εν λόγω ουσιών γίνεται από τον μεσεγκέφαλο, ο οποίος διαθέτει αισθητήρες νατρίου, οι οποίοι πυροδοτούν την τοπική παραγωγή ουαμπαΐνης, που με την σειρά της δρα ως νευροδιαβιβαστής και αυξάνει την τοπική παραγωγή αγγειοτενσίνης II και την δραστηριότητα του συμπαθητικού νευρικού συστήματος. Στην συνέχεια πιστεύεται ότι η παραγωγή ουαμπαΐνης και μαρινομπουφαγενίνης από τα επινεφρίδια διεγείρεται μέσω των β1-αδρενεργικών υποδοχέων και των AT2 υποδοχέων της αγγειοτενσίνης II³⁵.

Η υπόθεση αυτή ενισχύεται από πειράματα που έχουν γίνει σε νατριοευαίσθητα ποντίκια του Dhal (Dhal salt-sensitive rats) και έδειξαν ότι η φόρτιση με NaCl προκαλεί παροδική αύξηση της παραγωγής ουαμπαΐνης στον υπόκαμπο, την αμυγδαλή, τον υπεροπτικό πυρήνα του υποθαλάμου και την υπόφυση καθώς επίσης και αύξηση της παραγωγής αγγειοτενσίνης II από τον

υπεροπτικό πυρήνα του υποθαλάμου. Στην συνέχεια η χορήγηση ελάχιστης ποσότητας ουαμπαΐνης στον υπόκαμπο προκάλεσε αύξηση της παραγωγής αγγειοτενσίνης II από τον υπεροπτικό πυρήνα του υποθαλάμου και διπλασιασμό της αποβολής μαρινομπουφαγενίνης από τους νεφρούς. Η χορήγηση Λοσαρτάνης και αντισωμάτων έναντι της μαρινομπουφαγενίνης ανείρεσε την απάντηση των πειραματόζων στην ενδοεγκεφαλική χορήγηση ουαμπαΐνης³⁷.

ΒΙΟΛΟΓΙΚΕΣ ΔΡΑΣΕΙΣ ΕΝΔΟΓΕΝΩΝ ΓΛΥΚΟΣΙΔΩΝ ΚΑΙ ΣΥΣΧΕΤΙΣΗ ΤΟΥΣ ΜΕ ΤΗΝ ΥΠΕΡΤΑΣΗ.

Η κύρια βιολογική δράση των ενδογενών γλυκοσιδών συνίσταται στην αναστολή της δραστηριότητας της Na-K-ATPάσης, η οποία επιτυγχάνεται με την σύνδεση του μορίου τους με το εξωκυττάριο τμήμα της α υποομάδας του ενζύμου και συγκεκριμένα με τις αγκύλες M₃-M₄ και M₅-M₆. Το σύμπλεγμα γλυκοσίδης-ενζύμου ενδοκυτταρώνεται και καταστρέφεται³⁸.

Σύμφωνα με τις κλασικές μας γνώσεις η αναστολή της δραστηριότητας της Na-K-ATPάσης έχει ως αποτέλεσμα την μειωμένη επαναρρόφηση νατρίου από τους νεφρούς (νατριούρηση) και την αύξηση της δραστηριότητας των λείων μυϊκών ινών των αγγείων και των μυοκαρδιακών ινών. Η τελευταία αυτή επίδραση οδηγεί σε αύξηση των περιφερικών αντιστάσεων και αύξηση της δύναμης της καρδιακής συστολής, μηχανισμοί οι οποίοι οδηγούν σε αρτηριακή υπέρταση.

Τα πειραματικά και επιδημιολογικά δεδομένα που έχουμε στην διάθεσή μας δίνουν αντικρουόμενα αποτελέσματα σε σχέση με την επίδραση των ενδογενών γλυκοσιδών στην νατριούρηση, στην αρτηριακή πίεση και τις κυτταρικές τους δράσεις.

Γνωρίζουμε ότι το 40 % των ατόμων που πάσχουν από ιδιοπαθή υπέρταση παρουσιάζουν αυξημένα επίπεδα ενδογενούς ουαμπαΐνης στο αίμα τους, δεν βρέθηκε όμως θετική συσχέτιση των επιπέδων της ουαμπαΐνης με την αποβολή νατρίου από τα ούρα αλλά με την αποβολή καλίου. Η χρόνια χορήγηση πολύ μικρών δόσεων ουαμπαΐνης σε πειραματόζωα προκαλεί υπέρταση ενώ δεν συμβαίνει το ίδιο με την χορήγηση διγοξίνης. Η εφ' άπαξ χορήγηση μιας ενδοφλέβιας ένεσης ουαμπαΐνης σε υγιείς ανθρώπους δεν προκαλεί αύξηση της αρτηριακής πίεσης ούτε αύξηση του GFR, της νατριούρησης, της καλιούρησης και του όγκου των ούρων, προκαλεί μόνον μείωση του καρδιακού ρυθμού και αύξηση των επιπέδων της αγγειοτενσίνης II. Εξ άλλου πολύ χαμηλές συγκεντρώσεις ουαμπαΐνης, υπό-νανομοριακές, είναι σε θέση να προκαλέσουν διέγερση του πολλαπλασιασμού

λείων μυϊκών ινών, ενδοθηλιακών κυττάρων και επιθηλιακών νεφρικών κυττάρων χωρίς αναστολή της Na-K-ATPάσης^{35,38}.

Υπό το φως των ανωτέρω ευρημάτων ξεκίνησε και βρίσκεται σε εξέλιξη εκτεταμένη έρευνα των αλληλεπιδράσεων των ενδογενών γλυκοσιδών με την Na/KATPάση και την πιθανή εμπλοκή και άλλων ενζυμικών συστημάτων, τα οποία μέχρι σήμερα θεωρούσαμε άσχετα με την λειτουργία της Na/KATPάσης και την δράση των γλυκοσιδών.

Σε ότι αφορά την δομή και λειτουργία της Na/KATPάσης είναι σήμερα γνωστό ότι το εν λόγω ένζυμο αποτελείται από δύο υποομάδες, την α και την β , οι οποίες ενώνονται με την μορφή τετραμερούς για να αποτελέσουν στην μεμβράνη του κυττάρου την ολοκληρωμένη λειτουργική μονάδα του ενζύμου.

Η α υποομάδα αποτελεί την καταλυτική μονάδα η οποία υδρολύει το ATP σε ADP, δεσμεύει το Na και το K και διαθέτει τις θέσεις δέσμευσης με τον αναστολέα του ενζύμου την ουαμπαΐνη. Η β υποομάδα χρησιμεύει ως στήριγμα της α καθορίζοντας την τεταρτοταγή δομή και την θέση της στην μεμβράνη του κυττάρου, συμμετέχει επίσης στην τροποποίηση της συγγένειας του ενζύμου με το Na και το K. Έχει αποδειχθεί η ύπαρξη και μιας ακόμα, μικρής, υποομάδας της γ , της οποίας η σημασία στην λειτουργία του ενζύμου είναι άγνωστη³⁹.

Η Na/KATPάση παρουσιάζει πληθώρα ισομορφιών που αφορούν τόσο την υποομάδα α όσο και την β . Συγκεκριμένα υπάρχουν τέσσερις ισομορφίες για την α ($\alpha 1$, $\alpha 2$, $\alpha 3$, και $\alpha 4$) και τρεις για την β ($\beta 1$, $\beta 2$ και $\beta 3$). Η πλέον διαδεδομένη ισομορφία είναι η $\alpha 1\beta 1$ η οποία αποτελεί και την κυρίαρχη έκφραση του ενζύμου στο νεφρό και στα μυοκαρδιακά κύτταρα. Η $\alpha 3$ ισομορφία αποτελεί την κυρίαρχη μορφή στο ΚΝΣ το οποίο όμως παρουσιάζει την μεγαλύτερη ποικιλομορφία έκφρασης του ενζύμου από οποιονδήποτε άλλο ιστό^{38,39}.

Η τοπογραφική κατανομή της α υποομάδας στην μεμβράνη του κυττάρου έχει χαρακτηριστική διάταξη. Παρουσιάζει δέκα (10) αναδιπλώσεις μεταξύ ενδοκυττάρου και εξωκυττάρου χώρου με ισάριθμα διαμεμβρανικά τμήματα τα οποία ενώνονται μεταξύ τους με εξωκυττάρια γέφυρες. Το μήκος της α αλυσίδας κυμαίνεται από 1014 έως 1028 αμινοξέα, αναλόγως της ισομορφής. Το αμινικό και το καρβοξυλικό άκρο της πρωτεΐνης είναι στραμμένα στον ενδοκυττάρου χώρο. Η β αλυσίδα έχει μικρότερο μήκος το οποίο κυμαίνεται από 279 έως 304 αμινοξέα, αναλόγως ισομορφής, και είναι τοποθετημένη διαμεμβρανικά με ένα μικρό αμινοτελικό άκρο στραμμένο στον ενδοκυττάρου χώρο και ένα μεγάλο καρβοξυτελικό άκρο στραμμένο στον εξωκυττάρου χώρο³⁹.

Έχει αποδειχθεί σήμερα ότι οι θέσεις δέσμευσης της ουαμπαΐνης ευρίσκονται στην α υποομάδα και περιλαμβάνουν επτά (7), τουλάχιστον, αμινοξέα από τα

οποία τέσσερα ευρίσκονται στην M4 εξωκυττάρια γέφυρα, ένα στην M5 και δύο στην M6. Η σειρά των αμινοξέων που συνιστούν την θέση δέσμευσης της ουαμπαΐνης είναι η εξής: Glu³¹², Val³¹⁴, Ile³¹⁵, Gly³¹⁹, Phe⁷⁸³, Thr⁷⁹⁷ και Asp⁸⁰⁴. Είναι αυτονόητο ότι οι ίδιες θέσεις δέσμευσης ισχύουν για όλες τις ενδογενείς και εξωγενείς γλυκοσίδες⁴⁰.

Η σταθερά διάστασης (K_m) μεταξύ της ουαμπαΐνης και της Na/K-ATPάσης διαφέρει από είδος σε είδος και μεταξύ των ισομορφών. Σε ότι αφορά τον άνθρωπο για τις ισομορφές $\alpha 1$, $\alpha 2$ και $\alpha 3$ κυμαίνεται μεταξύ 10^{-8} έως 10^{-9} mol/L. Τα επίπεδα της ενδογενούς ουαμπαΐνης στο πλάσμα σε φάση ηρεμίας κυμαίνονται από υπό-νανομοριακές έως νανομοριακές συγκεντρώσεις. Οι υπό-νανομοριακές συγκεντρώσεις της ουαμπαΐνης δεν είναι σε θέση να αναστείλουν την δραστηριότητα της Na/K-ATPάσης είναι, όμως, σε θέση να διεγείρουν τον πολλαπλασιασμό λείων μυϊκών ινών, ενδοθηλιακών κυττάρων και επιθηλιακών κυττάρων νεφρικών σωληναρίων⁽³⁸⁾.

Κατόπιν των ανωτέρω έγινε σαφές ότι η σύνδεση της ουαμπαΐνης με την Na/K-ATPάση δεν είναι μια απλή διαδικασία αναστολής της δραστηριότητας ενός ενζυμικού συστήματος αλλά διεργασία σύνδεσης μιας ορμόνης με τον υποδοχέα της και τέθηκε θέμα αναζήτησης των διαδικασιών μετάδοσης του σήματος από το σύμπλεγμα Na/K-ATPάσης-ουαμπαΐνης στο εσωτερικό του κυττάρου καθώς επίσης και της απάντησης του κυττάρου⁴¹.

Προκειμένου να εξηγηθεί ο μηχανισμός της βιολογικής δράσης των ενδογενών γλυκοσιδών, σε κανονικές συγκεντρώσεις και σε νανομοριακές συγκεντρώσεις, έχουν προταθεί δύο πιθανοί μηχανισμοί. Ένας ο οποίος είναι γνωστός ως **Na-lag hypothesis and the PlasmERosome** και ένας ο οποίος δέχεται την δημιουργία ενός εξειδικευμένου συμπλέγματος της Na/K-ATPάσης με την μεμβράνη του κυττάρου και είναι γνωστός ως **Na/K-ATPase signalosome**^{38,42}.

Σύμφωνα με τον πρώτο μηχανισμό η σύνδεση της ουαμπαΐνης με την Na/K-ATPάση προκαλεί παροδική αύξηση της ενδοκυττάριας συγκέντρωσης νατρίου η οποία διεγείρει τον ανταλλάκτη Na/Ca (NCX) και οδηγεί σε αύξηση της εισροής Ca^{++} στον ενδοκυττάρου χώρο με αποτέλεσμα την άμεση πυροδότηση των αντιδράσεων του κυττάρου που βασίζονται στις δράσεις του ενδοκυττάρου ασβεστίου (iCa^{++}) ως ενδιάμεσου διαβιβαστή (second messenger).

Το ερώτημα που παραμένει είναι πως ελάχιστες συγκεντρώσεις ουαμπαΐνης είναι σε θέση να προκαλέσουν δραστική αύξηση του ενδοκυττάρου ασβεστίου αφού όσο μεγάλη και εάν είναι η συγγένεια της ουαμπαΐνης με την Na/K-ATPάση παραμένει πάντα ένας εκπληκτικά μεγάλος αριθμός ενζυματικών μονάδων ελεύθερος.

Απάντηση σε αυτό το ερώτημα δίνει η θεωρία που διατυπώνεται σχετικά με την κατανομή των ισομορφών της Na/K-ATPάσης στην μεμβράνη του κυττάρου.

Είναι γνωστό ότι η $\alpha 1$ ισομορφή είναι κατανομημένη σε μεγάλη έκταση στην μεμβράνη του κυττάρου και η κύρια αποστολή της εστιάζεται στην άντληση μεγάλων ποσοτήτων νατρίου από τον ενδοκυττάριο στον εξωκυττάριο χώρο. Οι $\alpha 2$ και $\alpha 3$ ισομορφές του ενζύμου ευρίσκονται κυρίως στην περιοχή της κυτταρικής μεμβράνης που έρχεται σε στενή επαφή με το υποκείμενο ενδοπλασματικό δίκτυο.

Η συγκεκριμένη περιοχή μαζί με το υποκείμενο πρωτόπλασμα που παρεμβάλλεται ανάμεσα στην κυτταρική μεμβράνη και το τμήμα της μεμβράνης του ενδοπλάσματος δίνει την εικόνα της δημιουργίας ενός ιδιότυπου «σωματίου» το οποίο δημιουργεί συνθήκες τοπικής αύξησης συγκέντρωσης ιόντων. Η ονομασία που δόθηκε στο συγκεκριμένο «σωμάτιο» είναι PlasmERosome (Plasma – Juxta Endoplasmic Reticulum-some). Η τοπική αύξηση της συγκέντρωσης ιόντων ευνοείται περαιτέρω από το γεγονός της τοπικής συσσώρευσης και άλλων αντλιών μεταφοράς ιόντων καθώς και υποδοχέων αγγειοσυσπαστικών ουσιών⁴².

Η συνάθροιση αντλιών και υποδοχέων που επιτυγχάνεται στην περιοχή του PlasmERosome περιλαμβάνει, στην πλευρά της κυτταρικής μεμβράνης, τις $\alpha 2$ και $\alpha 3$ ισομορφές της Na/K-ATPάσης, τον ανταλάκτη Na/Ca, τον διάυλο Na/Ca που είναι γνωστός ως Store Operated Channel (SOC) και υποδοχείς αγγειοσυσπαστικών ουσιών. Από πλευράς ενδοπλασματικής μεμβράνης περιλαμβάνει τον υποδοχέα της τριφωσφορικής ινοσιτόλης (IP3R) και την Ca-ATPάση του σαρκοπλάσματος (SERCA). Σε πολύ κοντινή θέση με το υποδοχέα της τριφωσφορικής ινοσιτόλης ευρίσκεται και ο υποδοχέας της ρυανοδίνης (RYR)⁴².

Η συνάθροιση όλων των παραπάνω αντλιών και υποδοχέων είναι σε θέση να προκαλέσει αύξηση του ελεύθερου κυτταροπλασματικού ασβεστίου τόσο στην περιοχή του «σωματίου» όσο και στο υπόλοιπο πρωτόπλασμα. Το έναυσμα της διαδικασίας δίνεται με την αναστολή της λειτουργίας των $\alpha 2$ και $\alpha 3$ ισομορφών της Na/K-ATPάσης έστω και από νανομοριακές συγκεντρώσεις ουαμπαΐνης.

Σε ότι αφορά τον δεύτερο μηχανισμό δράσης της ουαμπαΐνης είναι γνωστό ότι η κυτταρική μεμβράνη των μυοκαρδιακών ινών, των γραμμωτών μυϊκών ινών και των λείων μυϊκών ινών σχηματίζει εσοχές που έχουν σχήμα ωμέγα ή φλάσκας στις οποίες αθροίζεται ιοντικό ασβέστιο σε ποσότητες που μπορεί από μόνο του να καλύψει τις ανάγκες διέγερσης του κυττάρου. Οι εσοχές αυτές ονομάστηκαν από τον Yamada, το 1955, "caveolae" (little caves)⁴³.

Βασικό συστατικό των caveolae είναι μία πρωτεΐνη

που ονομάζεται καβεολίνη (caveolin) και περιλαμβάνει τρία μέλη την καβεολίνη-1, 2 και 3, χωρίς καβεολίνη δεν σχηματίζονται caveolae. Η καβεολίνη συνδέεται επίσης με άλλες πρωτεΐνες του κυτταροσκελετού όπως η αντουσίνη (adducin) και η αγκυρίνη (ankyrin). Οι εν λόγω σχηματισμοί έρχονται σε στενή επαφή με το υποκείμενο σαρκοπλασματικό δίκτυο και περιέχουν πληθώρα αντλιών μεταφοράς ιόντων, υποδοχείς και ένζυμα⁴³.

Οι αντλίες που κυριαρχούν στην μεμβράνη των caveolae είναι αντλίες μεταφοράς ασβεστίου όπως ο ανταλάκτης Na/Ca, η Plasma membrane Ca-pump (PMCA), τα L-type Ca channels και η Na/K-ATPάση. Περιέχουν επίσης την ισομορφή *n* της συνθετάσης του Νίτρο-Οξειδίου (n-NOS).

Η παρουσία της Na/K-ATPάσης στα caveolae είναι συυφασμένη με την αναστολή του υποδοχέα της τριφωσφορικής αδενοσίνης (IP3R) και της src-κινάσης (sarcoma kinase). Η αναστολή της Na/K-ATPάσης από την ουαμπαΐνη έχει ως άμεσο αποτέλεσμα την ενεργοποίηση της src-κινάσης και του IP3R η δράση των οποίων προκαλεί αύξηση του ενδοκυττάρου ασβεστίου⁴³. Η σύνδεση της Na/K-ATPάσης με την καβεολίνη την φέρνει σε άμεση σχέση με την αντουσίνη και την αγκυρίνη. Οι εν λόγω πρωτεΐνες του κυτταροσκελετού φαίνεται ότι παίζουν σημαντικό ρόλο στον τοπογραφικό προσανατολισμό της Na/K-ATPάσης στην μεμβράνη του κυττάρου (π.χ. πλαγιοβασική μεμβράνη των νεφρικών σωληναρίων) και επίσης αυξάνουν την δραστηριότητά της³⁸.

Μεταλλάξεις του γονιδίου της αντουσίνης έχει αποδειχθεί ότι συνδυάζονται με αυξημένα επίπεδα ενδογενούς ουαμπαΐνης και αρτηριακή υπέρταση σε ανθρώπους⁴⁴. Επίσης μεταλλάξεις του γονιδίου της αγκυρίνης συνδυάζονται με καρδιακές αρρυθμίες όπως το σύνδρομο «νοσούντος φλεβοκόμβου» και πρόωρο γήρας⁴⁵.

ΚΛΙΝΙΚΗ ΣΗΜΑΣΙΑ ΤΩΝ ΕΠΙ ΜΕΡΟΥΣ ΕΝΔΟΓΕΝΩΝ ΓΛΥΚΟΣΙΔΩΝ.

Από τα μέχρι τώρα εκτεθέντα είναι σαφές ότι αυξημένα επίπεδα ενδογενών γλυκοσιδών συνοδεύουν την αρτηριακή υπέρταση στους ανθρώπους που συνδυάζεται με αυξημένη πρόσληψη άλατος και αυξημένο εξωκυττάριο όγκο (νατριοευαίσθητη υπέρταση) και στα πειραματόζωα την υπέρταση που προκαλείται από κορτικοστεροειδή και αλάτι, από ACTH και αλάτι καθώς και την υπέρταση μειωμένης νεφρικής μάζας.

Η συνεισφορά όμως των καθ' έκαστα ουσιών δεν είναι ομοιογενής και τα επιδημιολογικά και πειραματικά δεδομένα που υπάρχουν στην διάθεσή μας, δείχνουν σημαντικές διαφορές μεταξύ των μελών της οικογένειας

των ενδογενών γλυκοσιδών.

Ουαμπαΐνη: Τα επίπεδα της ενδογενούς ουαμπαΐνης ευρίσκονται χρονίως αυξημένα στο 40 %, περίπου, των ασθενών που πάσχουν από ιδιοπαθή υπέρταση. Οξέως αυξάνονται σε καταστάσεις στρες, όπως τρέξιμο σε κυλιόμενο τάπητα, τόσο σε ανθρώπους όσο και πειραματόζωα. Αυξάνονται επίσης σε χρόνια λήψη αλατιού, στη χρόνια νεφρική ανεπάρκεια, σε καταστάσεις υπεραλδοστερονισμού, στην προεκλαμψία και στην καρδιακή ανεπάρκεια³⁸.

Ο προσδιορισμός των επιπέδων της ενδογενούς ουαμπαΐνης σε αρρώστους με καρδιακή ανεπάρκεια έδειξε ότι επίπεδα πάνω από 233 pmol/L συνδυάζονται με ταχεία εξέλιξη της νόσου και ότι ασθενείς που έπαιρναν διγοξίνη παρουσίαζαν μεγαλύτερα επίπεδα ουαμπαΐνης στο αίμα τους^{38,46}. Τα εν λόγω ευρήματα εκτός του ότι υποδεικνύουν την χρησιμότητα των επιπέδων της ουαμπαΐνης στο πλάσμα ως προγνωστικού δείκτη στην εξέλιξη της καρδιακής ανεπάρκειας, υπαινίσσονται ότι η χρήση δακτυλίτιδας σε ασθενείς με αρτηριακή υπέρταση που συνοδεύεται από αυξημένα επίπεδα ουαμπαΐνης μπορεί να επιδεινώσει προϋπάρχουσα καρδιακή ανεπάρκεια.

Η αρνητική δράση της ουαμπαΐνης στην καρδιακή ανεπάρκεια έχει αποδοθεί στο γεγονός ότι σε βιοψίες μυοκαρδίου ασθενών που πάσχουν από καρδιακή ανεπάρκεια, αποδείχθηκε ότι παρατηρείται υπό-έκφραση των ισομορφών α1 της Na/K-ATPάσης με επικράτηση κυρίως των α2 και α3 ισομορφών η χρόνια διέγερση των οποίων είναι συνυφασμένη με υπερτροφία και ίνωση του μυοκαρδίου³⁸.

Με βάση τα επιδημιολογικά και πειραματικά δεδομένα γίνεται προσπάθεια παραγωγής μιας νέας γενιάς αντιυπερτασικών φαρμάκων, τα οποία αποτελούν ανταγωνιστές της ουαμπαΐνης. Ήδη ευρισκόμαστε στην φάση II κλινικής εφαρμογής ενός φαρμάκου με το όνομα Rostafuroxin το οποίο δείχνει καλά αποτελέσματα στην αντιμετώπιση της υπέρτασης που συνδυάζεται με υψηλά επίπεδα ενδογενούς ουαμπαΐνης και μεταλλάξεων της α-αντουσίνης⁴⁷. Επίσης έχει χρησιμοποιηθεί με καλά αποτελέσματα στην αντιμετώπιση της υπέρτασης της προ-εκλαμψίας και της υπέρτασης που συνοδεύει εγκεφαλική αιμορραγία, ένα αντίσωμα έναντι της διγοξίνης γνωστό με το όνομα Digibind³⁸.

Διγοξίνη: Παρά το γεγονός ότι η πρώτη αναφορά στην χρήση της διγοξίνης ως καρδιοτονωτικού φαρμάκου χρονολογείται από το 1785 (Withering: «Monograph on foxglove») παραμένουν μέχρι σήμερα κενά στις γνώσεις μας σχετικά με την ευεργετική ή όχι δράση της στο μυοκάρδιο αλλά κυρίως πως αντιστρατεύεται την δράση της ουαμπαΐνης.

Είναι γνωστό ότι η χορήγηση διγοξίνης προλαμβάνει την εμφάνιση αρτηριακής υπέρτασης σε πειραματόζωα στα οποία χορηγείται ουαμπαΐνη. Πιθανολογείται ότι η

συγκεκριμένη δράση της διγοξίνης εκφράζεται μέσω των αρτηριακών τασεοϋποδοχέων και μέσω αναστολής της δράσης της ουαμπαΐνης σε επίπεδο κεντρικού νευρικού συστήματος⁴⁸.

Τα επίπεδα της ενδογενούς διγοξίνης βρίσκονται αυξημένα σε ασθενείς με νεφρική ανεπάρκεια, στην υπέρταση της εγκυμοσύνης, κατά την διάρκεια παρατεταμένης σωματικής άσκησης και στα νεογνά. Στις καταστάσεις αυτές ευρίσκονται επίσης αυξημένα επίπεδα ενδογενούς ουαμπαΐνης και δημιουργείται το ερώτημα κατά πόσον ο ρόλος της διγοξίνης εν προκειμένω εξαντλείται στον ανταγωνισμό των βλαπτικών δράσεων της ουαμπαΐνης, γι αυτό και χαρακτηρίζεται ως η ορμόνη που αντιστρατεύεται την δράση της ουαμπαΐνης³⁸.

Μαρινομπουφαγενίνη: Η μαρινομπουφαγενίνη ανήκει στην οικογένεια των μπουφαδιενολιδών και τα επίπεδά της ευρίσκονται αυξημένα στη προεκλαμψία, στο οξύ έμφραγμα μυοκαρδίου, σε αυξημένη πρόσληψη νατρίου (οξεία η χρόνια), στην χρόνια καρδιακή ανεπάρκεια και στην χρόνια νεφρική ανεπάρκεια όπου έχει ενοχοποιηθεί για την παθογένεια της ουραιμικής καρδιοπάθειας. Πάντως σε ασθενείς τελικού σταδίου νεφρικής ανεπάρκειας η ενδογενής γλυκοσίδη που βρέθηκε αυξημένη περισσότερο από όλες τις άλλες είναι η τελοσινομπουφαγενίνη (Telocinobufagin)³⁸.

Πειραματικά δεδομένα που προέρχονται από παρατηρήσεις σε ποντίκια με μερική νεφρεκτομή (5/6) έδειξαν ότι τα πειραματόζωα παρουσιάζουν αύξηση των επιπέδων της ενδογενούς μαρινομπουφαγενίνης στον πλάσμα τους και σε διάστημα 4 εβδομάδων παρουσιάζουν καρδιακή υπερτροφία και ίνωση του μυοκαρδίου. Η χορήγηση αντισωμάτων έναντι της μαρινομπουφαγενίνης, πριν την νεφρεκτομή, πρόλαβε την εμφάνιση αυτών των διαταραχών⁴⁹.

Οι ίδιοι ερευνητές έδειξαν ότι η προσθήκη μαρινομπουφαγενίνης σε ιστοκαλλιέργειες ινοβλαστών από το μυοκάρδιο των πειραματόζωων προκαλεί αυξημένη παραγωγή κολλαγόνου-1. Η αυξημένη παραγωγή κολλαγόνου προλαμβάνονταν από την προσθήκη στις ιστοκαλλιέργειες ουσιών που δεσμεύουν οξύριζες, ανταγωνιστών η εξάλειψη της Src-κινάσης καθώς επίσης και πρόληψη της ενεργοποίησης του EGFR⁴⁹.

Η μαρινομπουφαγενίνη έχει την ισχυρότερη νατριουρητική δράση από όλες τις ενδογενείς γλυκοσίδες. Πειραματικά δεδομένα που βασίζονται σε ποντίκια έχουν δείξει ότι η χορήγηση δίαιτας πλούσιας σε νάτριο οδηγεί σε αύξηση της αποβολής νατρίου και μαρινομπουφαγενίνης στα ούρα των πειραματόζωων. Συγχρόνως ανευρίσκεται μειωμένη ενζυμική δραστηριότητα της Na/K-ATPάσης στο εγγύς εσπειραμένο νεφρικό σωληνάριο, μειωμένη παρουσία της α1 ισομορφής στην κυτταρική μεμβράνη με

σύγχρονη αύξηση της παρουσίας της α1 ισομορφής στα κυτταρικά ενδοσώματα, γεγονός που ερμηνεύεται ως μετανάστευση της ενζυμικής μονάδας από την μεμβράνη του κυττάρου στο εσωτερικό του. Χορήγηση αντισωμάτων έναντι της μαρινομπουφαγενίνης οδήγησε σε αύξηση της νατριούρησης κατά 60 %, αύξηση της ενζυματικής δραστηριότητας της Na/K-ATPάσης και μειωμένη μετανάστευση του ενζύμου στο εσωτερικό του κυττάρου⁵⁰.

Η έντονη νατριουρητική δράση της μαρινομπουφαγενίνης ερμηνεύεται από το γεγονός ότι παρουσιάζει αυξημένη συγγένεια με την α1 ισομορφή της Na/K-ATPάσης η οποία, ως γνωστόν, αποτελεί την κυρίαρχη μορφή του ενζύμου στα νεφρικά σωληνάκια. Έχουν προταθεί δύο μηχανισμοί δράσης της μαρινομπουφαγενίνης σε κυτταρικό επίπεδο:

1. Ο ένας αφορά τα επιθηλιακά κύτταρα του εγγύς εσπειραμένου νεφρικού σωληναρίου και δέχεται ότι η σύνδεση της γλυκοσίδης με την ενζυμική μονάδα της Na/K-ATPάσης στο εγγύς εσπειραμένο νεφρικό σωληνάριο οδηγεί σε ενδοκυττάρωση του ενζύμου το οποίο παύει πλέον να αντλεί νάτριο από τον ενδοκυττάρω χώρο προς τον εξωκυττάρω, επίσης ενδοκυττάρωνει τον αντιμεταφορέα νατρίου-υδρογόνου (NHE3) και έτσι αναστέλλει την επαναρρόφιση νατρίου από τον αυλό του σωληναρίου^{35,50}.

2. Ο άλλος αφορά τα κύτταρα του άπω εσπειραμένου και αθροιστικού σωληναρίου και δέχεται ότι η μαρινομπουφαγενίνη ανταγωνίζεται την δράση της αλδοστερόνης μέσω των υποδοχέων των αλατοκορτικοειδών και μειώνει την παραγωγή των ενζυμικών μονάδων του επιθηλιακού διαύλου νατρίου (epithelial sodium channel) καθώς και την παραγωγή ενζυμικών μονάδων της Na/K-ATPάσης^{35,51}.

Είναι προφανές ότι με τις παραπάνω δράσεις η μαρινομπουφαγενίνη αναστέλλει την λειτουργία των μηχανισμών μεταφοράς νατρίου σε δύο περιοχές του νεφρικού σωληναρίου (εγγύς εσπειραμένο – άπω εσπειραμένο και αθροιστικό), οι οποίες θεωρούνται βασικής σημασίας για την επαναρρόφιση νατρίου για αυτό και πιστεύεται ότι η μαρινομπουφαγενίνη αποτελεί την υποθετική «νατριουρητική ορμόνη» του de Wardener.

Από τα μέχρι τώρα εκτεθέντα γίνεται εμφανές ότι η παθογένεια της υπέρτασης αποτελεί ένα ιδιαίτερα πολύπλοκο φαινόμενο για την πλήρη κατανόηση του οποίου έχουμε ακόμα να διανύσουμε πολύ δρόμο, για αυτό και αντί επιλόγου παραθέτουμε τη φράση του William Harvey, ο οποίος πριν από τρεις αιώνες περίπου αιώνες είχε γράψει τα εξής: "I found it so truly difficult that I almost believed with Fracastorius that it was to be understood by God alone" (in De Motu Cordis, 1628).

SUMMARY

Endogenous Cardiotonic Glycosides: Pathogenic role in Arterial Hypertension.

I. Koulouridis, E. Koulouridis.

Endogenous cardiotonic glycosides (ECGs) are endogenous substances produced by the adrenal glands under conditions of extracellular volume expansion. The structure and function of these substances are similar to cardiotonic glycosides derived from plants. The main biological action of ECGs is to inhibit the action of Sodium-Potassium ATPase (Na/K-ATPase). Inhibition of Na/K-ATPase increases the intracellular sodium concentration and produces an inward flux of calcium ions which act as second messenger, at cellular level, and result in vascular smooth muscle constriction, increase in peripheral resistance and hypertension. The main teleological goal of Na/K-ATPase inhibition is the reduction of sodium reabsorption at the level of renal tubules and the end effect of hypertension is the price we pay in order to maintain stable extracellular volume. In mammals and man have been described two main families of ECGs the Cardenolides (Ouabain and Digoxin) and the Bufadienolides (Marinobufagenin, Telocinobufagenin and 19-Norbufalin).

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ.

1. Tobian L Jr, Binion JT. "Tissue cations and water in arterial hypertension". *Circulation* 1952;5:754-758
2. Hilton PJ. "Cellular sodium transport in essential hypertension". *N Engl J Med* 1986;314:222-229
3. Wessels V.F., G. Junge-Hulsing and H. Losse. "Untersuchungen zur Natriumpermeabilität der Erythrozyten bei Hypertonikern und Normotonikern mit familiärer Hochdruckbelastung". *Z.Kreislaufforsch.* 1967;56:374-380
4. Postnov YU.V., S.N.Orlov, A.S.Shevchenko and A.M.Adler. "Altered sodium permeability, calcium binding and Na-K-ATPase activity in red blood cell membrane in essential hypertension" *Pfluegers Arch.* 1977;371:263-270
5. Postnov YU.V. and S.N.Orlov. "Cell membrane alteration as a source of primary hypertension" *J. Hypertens.* 1984;2:1-6
6. Haddy F.J. "Abnormalities of membrane transport in hypertension". *Hypertension* 1983;5 (supp V):V66-V72
7. Buckalew V.M., Haddy F.J. "The role of Digitalis-Like Factor in the pathophysiology of hypertension" . *Endocrine Mechanisms in Hypertension*, editors: J.H.Laragh, B.M.Brenner and N.M.Kaplan. Raven Press, New York, 1989
8. Haddy F.J. and Overbeck H.W. "The role of humoral agents in volume expanded hypertension". *Life Sci.* 1976;19:935-948
9. Blaustein M.P. "Sodium ions, calcium ions, blood pressure regulation and hypertension: a reassessment and a hypothesis". *Am J Physiol* 1977;232:C165-C173
10. Robinson B.F. "Altered calcium handling as a cause of

- primary hypertension". *J Hypertens* 1984;2:453-460
11. Smith H. "Salt and water volume receptors" *Am. J. Med.* 1957;23:623-652
 12. de Wardener H. E., Mills I. H., Clapham W. F. and Hayter C. J. "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
 13. de Wardener H. E. and Clarkson E. M.. "Concept of natriuretic hormone". *Physiol. Rev.* 1985;65:658-759
 14. Guyton A. C., Granger H. J. and Coleman T. G. "Autoregulation of the total systemic circulation and its relation to control of cardiac output and arterial pressure". *Circ. Res.* 1971;28(Suppl. I):I.93-I.97
 15. 14a. Gonick H. C., Kramer H. J., Paul W. and Lu E.. "Circulating inhibitor of sodium-potassium-activated adenosine triphosphatase after expansion of extracellular fluid volume in rats". *Clin. Sci., Mol. Med.* 1977;53:329
 16. Gruber K. A., Whitaker J. M. and Buckalew V. M. Jr. "Endogenous digitalis-like substance in plasma of volume-expanded dogs". *Nature London* 1980;287:743-745
 17. Castaneda-Fernandez G. and Godfraind T. "Effect of high sodium intake on tissue distribution of endogenous digitalis-like material in the rat". *Clin. Sci.* 1984;66:225-228
 18. Belpaire F. M., Bogaert M. G. and de Broe M. E. "Radio immunoassay of digoxin in renal failure: a comparison of different commercial kits". *Clin. Chim. Acta* 1975;62:255-261
 19. Borst J.G.G., Borst de Geus A. "Hypertension explained by Starling's theory of circulatory homeostasis". *Lancet* 1963;1:677
 20. de Wardener H.E., MacGregor G.A. "Dahl's hypothesis that a saluretic substance may be responsible for a sustained rise in arterial pressure: Its possible role in essential hypertension". *Kidney Int.* 1980;18:1
 21. Edmondson R.P.S., MacGregor G.A. "Leukocyte cation transport in essential hypertension: Its relation to the renin angiotensin system". *Br.Med.J.* 1981;282:1267-1269
 22. MacGregor G.A., Fenton S., Alagband-Zadeh J., Markandu N., Roulston J.E. and de Wardener H.E. "Evidence for a raised concentration of a circulating sodium transport inhibitor in essential hypertension". *Br.Med.J.* 1981;283:1355-1357
 23. Hamlyn J.M., Levinson P.D., Ringel R., Levin P.A., Hamilton B.P., Blaustein M.P., and Kowarski A.A. "Relationships among endogenous digitalis-like factors in essential hypertension". *Fed.Proc.* 1985;44:2782-2788
 24. Haddy F.J. and Pamnani M.B. "Evidence for a circulating endogenous Na-K pump inhibitor in low-renin hypertension". *Fed.Proc.* 1985;44:2789-2794
 25. Deray G., Permollet M.G., Devynck M.A., Zingraff J., Touan A., Rosenfeld J. and Meyer P. "Plasma digitalis-like activity in essential hypertension or end-stage renal disease". *Hypertension* 1986;8:632-638
 26. Metzler C.H., Hennessy J.F. and Buckalew V.M. "Evidence for a circulating ATPase inhibitor in the developmental phase of DOC-salt hypertension". *Abstracts, High Blood Pressure Research Council* 1982
 27. Rauch A.L., Paschal C.L. and Buckalew V.M.Jr "High salt diet increases circulating levels of a Na-K-ATPase inhibitor in Dahl S and R rats". *Clin. Res.* 1987;35:40A
 28. Clarkson E.M., Raw S.M., De Wardener H.E. "Two natriuretic substances in extracts of urine from normal man when salt depleted and salt loaded". *Kidney Int.* 1976;10:381
 29. Kelly R.A., O' Hara D.S., Mitch W.E. and Smith T.W. "Identification of Na-K-ATPase inhibitors in human plasma as nonesterified fatty acids and lysophospholipids". *J.Biol.Chem.* 1986;261:11704-11711
 30. Tamura M. and Inagami T. "Identification of lysophosphatidylcholine, γ -stearoyl (LPCS) as an endogenous Na-K-ATPase inhibitor in volume-expanded hog plasma" *Fed.Proc.* 1986;45:523
 31. Ahmed K. and Thomas B.S. "The effects of long chain fatty acids on sodium plus potassium ion-stimulated adenosine triphosphatase of rat brain". *J.Biol.Chem.* 1971;246:103-109
 32. Cloix J.F., Crabos M., Wainer I.W., Ruegg U., Seiler M. and Meyer P. "High yield-purification of a urinary Na-pump inhibitor" *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 1985;131:1234-1240
 33. Lichtstein D., Kachalsky S. and Deutsch J. "Identification of a ouabain-like compound in toad skin and plasma as bufodienolide derivative" *Life Sci.* 1986;38:1261-1270
 34. Neufield E., Sklarz B., Goldberg S., Gilad S., Goldfarb H., Laurian L., Silverger D.S. and Chayan R. "Observations on the chemical and physiological properties of urodionelone, an urinary compound found in hypertension" *Nephron* 1985;39:146-148.
 35. Schoner W, Scheiner-Bobis G. „Role of endogenous cardiotoxic steroids in sodium homeostasis“. *Nephrol Dial Transplant* 2008; 23: 2723-2729.
 36. Qazzaz H, Cao Z, Bolanowski DD, Clark B, Valdes R “De novo biosynthesis and radiolabeling of mammalian digitalis-like factors”. *Clinical Chemistry* 50. 2004; 3: 612-620.
 37. Fedorova OV, Zhuravin IA, Agalakova NI, Yamova LA, Talan MI, Lakatta EG, Bagrov AY. “Intrahippocampal microinjection of an exquisitely low dose of ouabain mimics NaCl loading and stimulates a bufadienolide Na/K-ATPase inhibitor”. *J Hypertens* 2007; 25: 1834-1844.
 38. 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: C509-C536.
 39. Blanco G, Mercer RW. “Isozymes of the Na-K-ATPase: heterogeneity in structure, diversity in function”. *Am J Physiol Renal Physiol* 1998; 275: 633 - 650.
 40. Qiu LY, Krieger E, Schaftenaar G, Swarts H, Willems P, De Pont JJ, Koenderink JB. *The Journal of biological Chemistry* 2005; 280: 32349-32355.
 41. Kaunitz JD. “Membrane transport proteins: not just for transport anymore”. *Am J Physiol Renal Physiol* 2006; 290: F995-F996.
 42. Blaustein MP, Zhang J, Chen L, Hamilton BP. „How does salt retention raise blood pressure?“ *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 2006; 290: R514-R523.
 43. Daniel EE, El-Yazbi A, Cho WJ. “Caveolae and calcium handling, a review and a hypothesis”. *J Cell Mol Med* 2006; 10: 529-544.
 44. Manunta P, Maillard M, Tantardini C, Simonini M, Lanzani C, Citterio L, Stella P, Casamassima N, Burnier M, Hamlyn JM, Bianchi G. “Relationships among endogenous ouabain, alpha-adducin polymorphisms and renal sodium handling in

- primary hypertension". *J Hypertens* 2008; 26: 914-920.
45. Mohler PJ, Healy JA, Xue H, Puca AA, Kline CF, Allingham RR, Kranias EG, Rockman HA, Bennett V. "Ankyrin-B syndrome: enhanced cardiac function balanced by risk of cardiac death and premature senescence". *PLOS one* 2007; 2(10):e1051.
 46. Pitzalis MV, Hamlyn JM, Massaggio E, Iacoviello M, Forleo C, Romito R, de Tommasi E, Rizzon P, Bianchi G, Manunta P. "Independent and incremental prognostic value of endogenous ouabain in idiopathic dilated cardiomyopathy". *Eur J Heart Fail* 2006; 8: 179-186.
 47. Ferrari P, Ferrandi M, Valentini G, Bianchi G. « Rostafuroxin : an ouabain antagonist that corrects renal and vascular Na-K-ATPase alterations in ouabain and adducin-dependent hypertension ». *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 2006; 290: R529-R535.
 48. Huang BS, Kudlac M, Kumarathasan R, Leenen FH. "Digoxin prevents ouabain and high salt intake-induced hypertension in rats with sinoaortic denervation" *Hypertension* 1999; 34: 733-738.
 49. Elkareh J, Kennedy DJ, Yashaswi B, Vetteth S, Shidyak A, Kim EGR, Smaili S, Periyasamy SM, Hariri IM, Fedorova L, Liu J, Wu L, Kahaleh MB, Xie Z, Malhorta D, Fedorova OV, Kaskin VA, Bagrov AY, Shapiro JI. "Marinobufagenin stimulates fibroblast collagen production and causes fibrosis in experimental uremic cardiomyopathy". *Hypertension* 2007; 49: 215-224.
 50. Periyasamy SM, Liu J, Tanta F, Kabak B, Wakefield B, Malhotra D, Kennedy DJ, Nandoor A, Fedorova OV, Gunning W, Xie Z, Bagrov AY, Shapiro JI. "Salt loading induces redistribution of the plasmalemmal Na/K-ATPase in proximal tubule cells". *Kidney Int.* 2005; 67: 1868-1877.
 51. Smith CL, He Q, Huang L, Foster E, Puschett JB. "Marinobufagenin interferes with the function of the mineralocorticoid receptor". *Biochem Biophys Res Commun* 2007; 356(4): 930-934.