

Sodyum Pompası, Endojen Kardiyak Glikozitler ve Bazı Hastalıkların Patofizyolojisindeki Rollerini

Sodium Pump, Endogenous Cardiac Glycosides and Their Role in the Pathophysiology of Several Diseases

Mustafa ARK¹

¹ Gazi Üniversitesi Eczacılık Fakültesi, Farmakoloji Anabilim Dalı, Ankara

Özet

Membrana bağımlı bir enzim olan Na⁺, K⁺, ATP-az, hücre iyon dengesi ve hücre hacmini düzenler. Kardiyak glikozitler NKA'yı özgül olarak inhibe eden bir sınıf bileşiktir. Bu maddelerin memeli plazmasında endojen olarak bulunduğu gösterilmiştir. Güncel çalışmalar bu bileşiklerin yükselmiş derişimleri ile hipertansiyon, preeklampsi, miyokart infarktüsü ve diyabet gibi çeşitli hastalıklar arasında ilişki olduğuna işaret etmektedir. Bunlara ek olarak, en çok çalışılmış olan kardiyak glikozitlerden biri olan ouabainin, çeşitli kanser hücre dizilerinde apoptotik hücre ölümlerini indüklediği gösterilmiştir. Endojen kardiyak glikozitlerin etkilerinin farmakolojik olarak düzenlenmesinin yeni tedavilerin geliştirilmesi için yeni bir yol sunabileceği düşünülmektedir.

Anahtar sözcükler: Na⁺,K⁺ ATP-AZ, ouabain, endojen kardiyak glikozitler.

Abstract

Na⁺,K⁺, ATP-ase, a membrane-bound enzyme, regulates cellular ion balance and cell volume. Cardiac glycosides are a class of compounds that specifically inhibit the NKA. These compounds have been shown to exist endogenously in mammalian plasma. Recent studies indicate that various diseases such as hypertension, preeclampsia, myocardial infarction, and diabetes mellitus have a significant relation to elevated concentrations of these compounds. Moreover, it has been shown that ouabain, one of the most studied cardiac glycosides, induced apoptotic cell death in various cancer cell lines. It has been considered that pharmacological modulation of the effect of endogenous cardiac glycosides could offer a novel way to develop new therapies.

Key words: Na⁺,K⁺ ATPase, ouabain, endogenous cardiac glycosides.

Mersin Univ Sağlık Bilim Derg, 2009;2(3):1-6

Geliş Tarihi : 21.01.2010

Kabul Tarihi : 15.03.2010

Yazışma Adresi:

Dr. Mustafa ARK

Gazi Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Farmakoloji Anabilim Dalı,

Etiler, 06330, Ankara

Tel : 0-0312-2023128

Faks : 0-0312-2235018

E-posta : mark@gazi.edu.tr

Giriş

Uzun yıllardan beri konjestif kalp yetmezliğinin tedavisinde kullanılan ilaç gruplarından biri olan kardiyak glikozitlerin bazılarının, insan da dahil olmak üzere birçok memeli türünde endojen olarak bulunduğu gösterilmiştir (1). Öte yandan bu maddelerin Na^+ , K^+ , ATP-az (NKA) inhibisyonu dışında birçok hücre tipinde çeşitli hücre sinyal ileti sistemlerini de etkilediği saptanmıştır (2). Yine bu aileden bazı bileşiklerin bazı kanser hücre dizilerinde antikanser aktivite gösterdikleri de gözlenmiştir (3). Bütün bu özellikleri nedeniyle son yıllarda endojen kardiyak glikozitlere ilgi artmış ve literatürde bu konuyla ilgili çok sayıda makale yayımlanmıştır. Bu derleme kapsamında kardiyak glikozitlere ait bu yeni özelliklerle ilgili çalışmalar kısaca gözden geçirilmeye çalışılmıştır. Öncelikle kardiyak glikozitlerin hedef molekülü olan NKA hakkında bilgiler verilmiş daha sonraki bölümlerde ise kardiyak glikozitlerin yapı ve işlevleri ile fizyopatolojik olaylardaki rollerine değinilmiştir.

Na^+ , K^+ , ATP-az Yapı ve İşlevleri

NKA veya sodyum pompası bütün memeli hücrelerinde yer alan ve hücre iyon dengesi ile hücre hacminin düzenlenmesinde önemli işlev gören bir membran proteindir (4). Memeli hücresindeki enerji tüketiminin önemli bir kısmı bu enzimin etkinliği sırasında tüketilmektedir.

NKA biri α ($\alpha 1$, $\alpha 2$, $\alpha 3$ ve $\alpha 4$) ve diğeri β ($\beta 1$, $\beta 2$ ve $\beta 3$) olmak üzere iki alt birimden oluşur (5-7). Bu alt birimlere ilave olarak FXDY veya fosfolemman olarak adlandırılan ve bu iki alt birim ile ilişki içerisinde olan bir başka birime de sahiptir (8). NKA membranı on kez geçen bir integral membran proteindir. Proteinin ekstrasellüler kısmında kardiyotonik steroid bağlayıcı kısım yer almaktadır. Enzimin intrasellüler kısmında ise hücre içindeki bazı proteinler ile etkileşim bölgeleri yer almaktadır.

NKA'nın hücredeki temel işlevi hücre içine K^+ iyonlarını alıp, hücre dışına Na^+ iyonlarının atılmasıdır. Bu transport 2/3 oranında gerçekleşir ve bu biçimde hücre membranının iyonik dengesinin korunması sağlanmış olur. Hücre içi iyonik dengenin bu biçimde sağlanmış olması hücre hacminin düzenlenmesini de sağlar. α alt birim, Na^+ varlığında ATP tarafından fosforile edilir ve üç hücre içi Na^+ iyonu NKA'ya bağlanarak hücre dışına taşınır. Na^+ iyonları hücre dışına atıldıktan sonra bunu enzimin defosforilasyonu izler. Enzimin defosforile formu iki K^+ iyonunu bağlayarak hücre içine taşır ve böylece bir çevrim tamamlanmış olur.

Son yıllarda yapılan çalışmalar NKA'nın yukarıda bahsedilen bu işlevlerinin yanında, hücre sinyal iletiminde rol oynayan bir integral membran proteini olduğunu da göstermiştir. Pompanın hücre içerisinde yer alan kısımlarının hücre sinyal iletiminde yer alan çeşitli proteinler ile etkileşimi bu olgudan sorumludur. NKA, hücre membranında yer alan ve kaveola (*caveolae*) adı verilen hücre membran girintilerinde yer almakta ve burada bulunan öteki komşu proteinler ile etkileşmektedir (9,10).

Bu biçimde gerçekleşen NKA-protein etkileşimi de hem NKA'nın hem de komşuluk gösterdiği öteki proteinlerin hücre içerisinde etkileştikleri sinyalleme sistemlerinin uyarılmasına neden olmaktadır. Bu sinyal ileti mekanizmalarından en önemlilerinden birini ScR-EGFR-MEK-ERK yolu oluşturmaktadır (11-13).

Son yıllarda yapılan çalışmalar, NKA'nın hücre-hücre bağlantılarının oluşumu ve işlevi açısından da önemli olduğunu göstermiştir. Özellikle NKA'nın β alt birimi bu işlevin gerçekleşmesinden sorumludur. NKA β alt birimleri iki komşu hücrede birbirlerine N-glikanlar aracılığı ile bağlanmakta ve bunlar da buldukları hücrelerde hücre iskeletini oluşturan filamentöz aktin ve spektrin proteinleri ile etkileşmektedirler (14). Bu şekilde NKA, hücre-hücre sıkı bağlantı bölgelerindeki bağlardan birini oluşturmaktadır.

NKA'nın yukarıda sözü edilen işlevlerinin önemli bir kısmının gerçekleştirilmesinde, kardiyak glikozitler ile NKA etkileşiminin önemli rolü olduğu düşünülmektedir.

Kardiyak Glikozitler Yapı ve İşlevleri

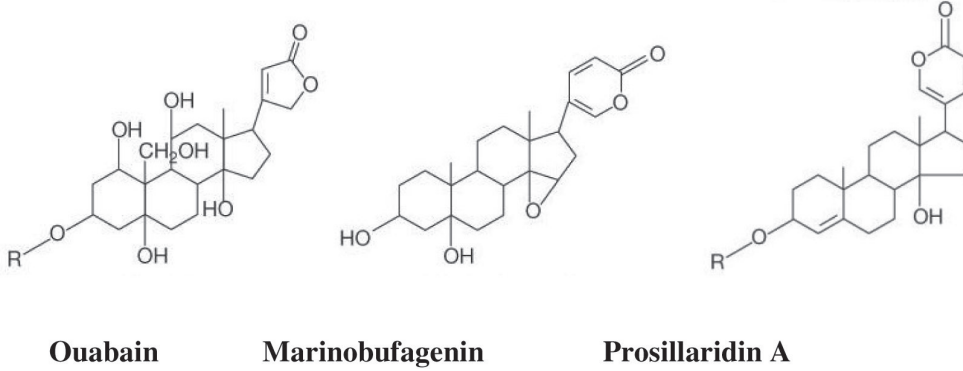
Kardiyak glikozitler, 18. yüzyılda William Withering tarafından *Digitalis purpurea* bitkisinin konjestif kalp yetersizliği tedavisinde kullanılmasından beri bilinmektedir (15). Kardiyak glikozitlerin etki mekanizması, Schatmann'ın 1953'te bu maddelerin sodyum pompasının özgül inhibitörleri (16) ve plazma membranlarındaki NKA'nın da dijital reseptörleri olduğunu bulmasından sonra ortaya çıkmıştır (4). Bu bileşikler NKA'nın α alt biriminin hücre dışına yer alan kısmındaki özgün bağlanma bölgelerine bağlanırlar (7). Bu bağlanma enzimin inhibisyonuna neden olmaktadır. Enzimin inhibisyonu ise, hücre membranını depolarize eder ve kardiyak glikozitler tarafından oluşturulan miyokart üzerindeki pozitif inotropik etkinin temelini oluşturur.

Kardiyak glikozitler steroid iskeleti taşırlar ve kimyasal yapılarına göre iki temel gruba ayrılırlar. Ouabain ve digoksin kardenolidler, marinobufagenin ve prosillardin A ise bufadienolidler adı verilen grupların üyelerini oluştururlar.

1991 yılında Hamlyn ve ark. (1) ilk defa ouabainin endojen olarak memelilerde bulunduğunu göstermiştir. Sonraki yıllarda ouabain dışında grubun öteki üyelerinin de endojen olarak bulunduğu saptanmıştır. Endojen kardiyak glikozitlerin memelilerde böbrek üstü bezinde sentezlenip buradan salgılandığı belirlenmiştir. Endojen kardiyak glikozitlerin salgılanması, ACTH, Anjiyotensin II, vazopresin ve katekolaminler tarafından kontrol edilmektedir (17-20).

NKA'nın değişik izoformları endojen kardiyak glikozitlere değişik düzeyde afinite gösterirler. Öte yandan değişik kardiyak glikozitlerin pompa üzerinde oluşturduğu etkiler de değişkenlik göstermektedir. Örneğin ouabain aracılıklı bazı etkiler digoksin tarafından antagonize edilmektedir (21). Ayrıca

ouabain aracılıklı etkiler bu maddenin uygulandığı derişime bağılı olarak da değişiklik göstermektedir.



Şekil 1: Bazı kardiyak glikozitlerin kimyasal yapıları. Ouabain bir kardenolitken, marinobufagenin ve prosillaridin A bir bufadenolittir. (R: Ramnoz).

Fizyopatolojik Olaylarda Endojen Kardiyak Glikozitler

Kardiyak glikozitlerin endojen olarak memelilerde bulunduğunun belirlenmesinden sonra bu maddelerin fizyolojik işlevlerinin neler olduğu ve çeşitli patolojilerde yer alıp almadıkları konusunda yoğun çalışmalar yapılmıştır. Bu konuda kardiyak glikozitler içinde üzerinde en çok çalışılan ouabaindir.

Ouabainin hücresele düzeydeki etkinliği iki değişik derişim aralığını içermektedir. Düşük nanomolar derişimde bu madde NKA inhibisyonuna neden olmamaktadır (22). Ancak bu derişimlerde NKA'ya bağlanmakta ve NKA aracılıklı hücre içi sinyal uyarısını tetiklemektedir (2). Düşük derişimlerdeki bu etki ouabain aracılıklı fizyolojik yanıtlar ile ilişkilendirilmektedir. Ancak endojen kardiyak glikozitlerin aracılık ettiği fizyolojik olaylar tam olarak tanımlanamamıştır. Yüksek mikromolar derişimlerdeki ouabain ise NKA ile etkileşmekte ve enzimin inhibisyonuna neden olmaktadır (22). Bu etki ise ouabain aracılıklı toksik etkiler ile ilişkilendirilmektedir (22).

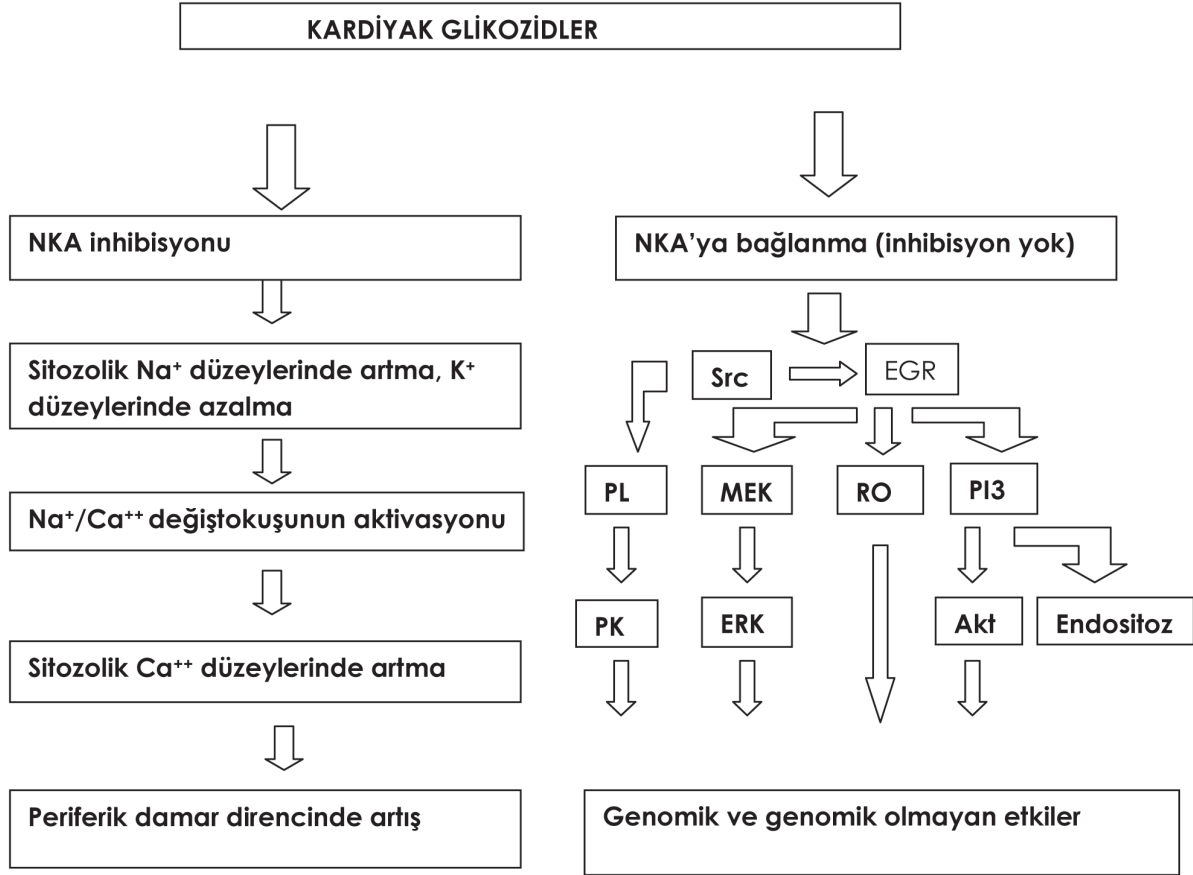
Artmış endojen ouabain düzeyleri ile esansiyel hipertansiyon arasında ilişkinin olduğu belirlenmiştir. Bu tür hipertansiyon olgularının %50 kadarında endojen ouabain düzeylerinin arttığı saptanmıştır (23,24). Bu bulgulara ilave olarak, rodentlere düşük mikromolar derişimlerde kronik ouabain uygulanmasının bu hayvanlarda hipertansiyon gelişmesine neden olduğu gösterilmiştir (25). Ouabain aracılıklı hipertansiyon gelişmesinin mekanizmasının, bu maddenin NKA'yı inhibe ederek hücre içi Na^+ düzeylerini artırması ve bunu takiben hücre içi kalsiyum düzeylerinin artışına bağılı damar

direncinin artmasının olduğu düşünölmektedir. Güncel eğilim endojen ouabainin etkisini antagonize edebilen bileşiklerin geliştirilmesi ve bunların antihipertansif amaçlarla kullanımıdır. Bu amaçla ilk geliştirilen bileşik rostafuroksin (PST2238)'dir. Bu bileşğin rodentlerde ouabain infüzyon modelinde etkili olduğu bulunmuştur (26) ve şu anda çok merkezli faz II çalışmaları sürmektedir (27).

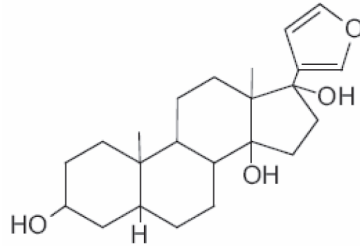
Hipertansiyon dışında konjestif kalp yetersizliği, preeklampsi, miyokardiyal infarktüs ve diyabet gibi hastalıklar da kardiyotonik steroidlerle ilişkilendirilmiştir. Liu ve ark. (27) plazma digoksin benzeri immünoreaktivite ile konjestif kalp yetersizliğinin şiddeti arasında pozitif ilişki olduğunu belirlemişlerdir. Benzer biçimde preeklampsili hastalardan elde edilen plazmalarda artmış dijital benzeri immünoreaktivite ve NKA inhibe edici etki saptanmıştır (28). Deneysel diyabet oluşturulan hayvanlarda (29) ve diyabetik hastalarda endojen kardiyak glikozit düzeyleri yükselmiştir (30).

Yukarıda sözü edilen patolojilerin yanında, gerek normal gerekse kanser hücrelerinin ouabain ile muamele edilmesinin apoptotik hücre ölümlerine aracılık ettiği gösterilmiştir (3). Bu durum ouabain ve benzeri bileşiklerin antikanser etkili bileşikler olarak geliştirilmesini gündeme getirmiştir (31).

Sonuç olarak, endojen kardiyak glikozitlerin insan da dahil olmak üzere memelilerde endojen olarak sentezlendiği ve birçok fizyopatolojik olgudan sorumlu olabileceği düşünöldüğünde, NKA ve endojen kardiyak glikozitlerin aracılık ettiği olguların farmakolojik olarak değiştirilmesi bu hastalıkların tedavisi için yeni bir açılım oluşturacaktır.



Şekil 2: NKA ile kardiyak glikozitlerin etkileşimine bağlı olarak gelişen hücresel olaylar: Düşük nanomolar derişimlerde kardiyak glikozitler NKA ile etkileşerek hücre içi sinyal ileti mekanizmalarını etkinleştirirken, yüksek mikromolar derişimlerde NKA'yı inhibe ederek hücre içi Na⁺ düzeyleri ve takiben hücre içi kalsiyum düzeylerini artırır ve damar direncinin yükselmesine neden olurlar. Kısaltmalar: EGRF, Epidermal büyüme faktörü reseptörü; ERK, Ekstrasellüler düzenlenen kinaz; MEK, Mitojenle etkinleştirilen kinaz; PI(3)K, Fosfoinozimid-3 kinaz ; PKC, Protein kinaz C; PLC, Fosfolipaz C; ROS, Reaktif oksijen türleri.



Rostafuroksin

Şekil 3: Antihipertansif olarak geliştirilen rostafuroksinin yapısı.

Kaynaklar

1. Hamlyn JM, Blaustein MP, Bova S, DuCharme DW, Harris DW, Mandel F, Mathews WR, Ludens JH. Identification and characterization of a ouabain-like compound from human plasma. *Proc Natl Acad Sci USA* 1991; 88: 6259–63.
2. Liu J, Tian J, Haas M, Shapiro JJ, Askari A, Xie Z. Ouabain interaction with cardiac Na⁺/K⁺ ATPase initiates signal cascades independent of changes in intracellular Na⁺ and Ca²⁺. *J Biol Chem* 2000; 275:27838–44 .
3. Weidemann H. Na/K-ATPase, endogenous digitalis like compounds and cancer development - a hypothesis. *Front Biosci* 2005 ;1;10:2165-76
4. Skou JC. The influence of some cations on an adenosine triphosphatase from peripheral nerves. *Biochim Biophys Acta* 1957;23:394-401 .
5. Blanco G, Mercer RW. Isozymes of the Na-K-ATPase: heterogeneity in structure, diversity in function. *The Am J Physiol* 1998; 275: F633–F650.
6. Lingrel JB, Orlowski J, Shull M M, Price EM. Molecular genetics of Na,K-ATPase. *Prog Nucleic Acid Res Mol Biol* 1990;38:37-89.
7. Sweadner KJ. Isozymes of the Na⁺/K⁺-ATPase. *Biochim Biophys Acta* 1989; 988: 185-220.
8. Sweadner KJ, Rael E. The FXYD gene family of small ion transport regulators or channels: cDNA sequence, protein signature sequence, and expression. *Genomics* 2000;15:68:41-56.
9. Takeyasu K, Okamura H, Yasuhara JC, Ogita Y, Yoshimura SH. P-type ATPase diversity and evolution: The origins of ouabain sensitivity and subunit assembly. *Cell Mol Biol* 2001;47:325–33.
10. Liu L, Mohammadi K, Aynafshar B, Wang H, Li D, Liu J, Ivanov AV, Xie Z, Askari A. Role of caveolae in the signal transducing function of cardiac Na⁺/K⁺-ATPase. *Am J Physiol* 2003 ;284(6):C1550-60.
11. Haas M, Askari A, Xie Z. Involvement of Src and epidermal growth factor receptor in the signal transducing function of Na⁺/K⁺-ATPase. *J Biol Chem* 2000;275:27832–7.
12. Haas M, Wang H, Tian J, Xie Z. Src-mediated interceptor cross-talk between the Na⁺-K⁺-ATPase and the EGF receptor relays the signal from ouabain to mitogen-activated protein kinases. *J Bio Chem* 2002; 277: 18694–702.
13. Mohammadi K, Kometiani P, Xie Z, Askari A. Role of protein kinase C in the signal pathways that link Na⁺,K⁺-ATPase to ERK1/2. *J Biol Chem* 2001;276: 42050–56.
14. Vagin O, Tokhtaeva E, Sachs G. The Role of the beta1 Subunit of the Na,K-ATPase and Its Glycosylation in Cell-Cell Adhesion. *J Biol Chem* 2006; 281 (51): 39573–87.
15. Withering W. An account on the foxglove, and some of its medical uses with practical remark on dropsy and other diseases. London; G.G .J .& J.Robinson:1785.
16. Schatzmann HJ. Herzglykoside als hemmstoffe für den aktiven kaliumund natriumtransport durch die erythrocytenmembran. *Helv Physiol Pharmacol Acta* 1953;11: 346–54.
17. Liu P, Rudick M, Anderson RG. Multiple functions of caveolin-1. *J Biol Chem* 2002;277:41295–8.
18. Fedorova OV, Doris PA, Bagrov AY. Endogenous marinobufagin-like factor in acute plasma volume expansion. *Clin Exp Hypertens*. 1998;20:581–91.
19. Dmitrieva RI, Doris, PA. Cardiotonic steroids: Potential endogenous sodium pump ligands with diverse function. *Exp Biol Med* 2002 ;227:561–9.
20. Schoner, W. Endogenous cardiac glycosides, a new class of steroid hormones. *Eur J Biochem* 2002; 269:2440–8.
21. Huang BS, Kudlac M, Kumarathasan R, Leenen FH. Digoxin prevents ouabain and high salt intake-induced hypertension in rats with sinoaortic denervation. *Hypertension* 1999;34:733-8.
22. Zhang J, Lee MY, Cavalli M, Chen L, Berra-Romani R, Balke CW, Bianchi G, Ferrari P, Hamlyn JM, Iwamoto T, Lingrel JB, Matteson DR, Wier WG, Blaustein MP. Sodium pump alpha2 subunits control myogenic tone and blood pressure in mice. *J Physiol* 2005; 15;569:243-56.
23. Goto A, Yamada K. Putative roles of ouabainlike compound in hypertension: revisited. *Hypertens Res* 2000;23:S7–S13.
24. Manunta P, Stella P, Rivera R, Ciurlino D, Cusi D, Ferrandi M, et al. Left ventricular mass, stroke volume, and ouabain-like factor in essential hypertension. *Hypertension* 1999;34:450–6.
25. Ferrandi M, Molinari I, Barassi P, Minotti E, Bianchi G, Ferrari P. Organ hypertrophic signaling within caveolae membrane subdomains triggered by ouabain and antagonized by PST 2238. *J Biol Chem*. 2004 6;279(32):33306-14.
26. Ferrari P, Torielli L, Ferrandi M, Padoani G, Duzzi L, Florio M, Conti F, Melloni P, Vesci L, Corsico N, Bianchi G. J. PST2238: a new antihypertensive compound that antagonizes the long-term pressor effect of ouabain. *Pharmacol Exp Ther* 1998;285(1):83-94.
27. Liu ZQ, Ma AQ, Zhang L, Yang DY. Intra-cellular electrolyte changes and levels of endogenous digoxin-like substance within the plasma in patients with congestive heart failure. *Int J Cardiol* 1990;27(1):47-53.
28. Graves SW, Valdes R Jr, Brown BA, Knight AB, Craig HR. Endogenous digoxin-immunoreactive substance in human pregnancies. *J Clin Endocrinol Metab* 1984;58(4):748-51.
29. Clerico A, Giampietro O. Is the endogenous digitalis-like factor the link between hypertension and metabolic disorders as diabetes mellitus, obesity and acromegaly?. *Clin Physiol Biochem* 1990;8(3):153-68.

30. Chen S, Yuan C, Clough D, Schooley J, Haddy FJ, Pamnani MB. Role of digitalis-like substance in the hypertension of streptozotocin-induced diabetes in reduced renal mass rats. *Am J Hypertens* 1993;6:397-406.
31. Mijatovic T, Van Quaquebeke E, Delest B, Debeir O, Darro F, Kiss R. Cardiotonic steroids on the road to anti-cancer therapy. *Biochim Biophys Acta* 2007;1776(1):32-57.