

Nr. 61a)

Übersetzung:

Ouabain, ein Steroid, das im Blutkreislauf und in verschiedenen Geweben vorkommt, beeinflusst nachweislich das Wachstum und die Lebensfähigkeit verschiedener Zellen in Kultur. Um den möglichen Einfluss dieses Steroids auf Wachstum und Lebensfähigkeit in vivo zu testen, untersuchten wir die Beteiligung von mütterlicherseits zirkulierendem Ouabain an der Regulierung des fötalen Wachstums und der Organentwicklung. Wir konnten zeigen, dass die intraperitoneale Verabreichung von Anti-Ouabain-Antikörpern an trächtige Mäuse zu einem Rückgang des zirkulierenden Ouabainspiegels um mehr als 80 % führte. Diese Verringerung führte zu einer signifikanten Abnahme des Körpergewichts der Nachkommen, begleitet von einer Vergrößerung des Herzens der Nachkommen und einer Hemmung des Nieren- und Leberwachstums. Die Hemmung des Nierenwachstums äußerte sich in einer Abnahme der Größe und Anzahl der Nephrone. Nach der Verringerung des mütterlicherseits zirkulierenden Ouabains war die Expression von Cyclin D1 in den Nieren reduziert und die Expression der $\alpha 1$ -Isoform der Na^+ , K^+ -ATPase erhöht. Darüber hinaus wurde eine Erhöhung der Proliferations-Signale, einschließlich ERK1/2, p-90RSK, Akt, PCNA und Ki-67, und eine Verringerung der apoptotischen Faktoren wie Bax, Caspase-3 und TUNEL festgestellt. Während der menschlichen Schwangerschaft stieg der zirkulierende mütterliche Ouabain Spiegel an, und die höchste Konzentration des Steroids wurde in der Plazenta gefunden. Außerdem war der zirkulierende Ouabain Spiegel bei Frauen mit Neugeborenen im kleinen Gestationsalter deutlich niedriger als bei Frauen mit Neugeborenen im normalen Gestationsalter. Diese Ergebnisse stützen die Annahme, dass Ouabain ein Wachstumsfaktor ist, und lassen vermuten, dass eine Verringerung der Konzentration dieses Hormons während der Schwangerschaft das Risiko für Wachstumsstörungen und eine gestörte Nierenentwicklung erhöhen kann.

Ouabain ist als endogenes Steroidhormon bekannt, das an der Regulierung des Blutdrucks und der Kontraktibilität des Herzmuskels beteiligt ist.^{1,2} Der einzige bekannte Rezeptor für dieses Hormon ist die Na^+ , K^+ -ATPase, ein wichtiger Plasmamembrantransporter. Die Na^+ , K^+ -ATPase nutzt die Energie der ATP-Hydrolyse, um den Austausch von intrazellulärem Na^+ gegen extrazelluläres K^+ zu katalysieren. Diese Aktivität ist für die Regulierung des Zellvolumens und der Osmolarität, des pH-Werts und der Kalziumkonzentration, für die Aufrechterhaltung des elektrischen Potenzials der Plasmamembran und für den Cotransport von Ionen, Glukose und Aminosäuren durch die Plasmamembran unerlässlich.^{3,4}

Es wurde nachgewiesen, dass Ouabain in der Nebenniere synthetisiert und aus ihr freigesetzt wird.^{5,6} Die Bindung des Steroids an die Na^+ , K^+ -ATPase hemmt seine hydrolytischen und ionentransportierenden Aktivitäten. Darüber hinaus wurde festgestellt, dass die Wechselwirkung zwischen Ouabain und der Na^+ , K^+ -ATPase den Zusammenschluss mehrerer Proteinkomplexe zu funktionellen Mikrodomänen auslöst, die verschiedene Signalwege aktivieren. Zu den verschiedenen Kaskaden, die aktiviert werden, gehören der Src-1,4,5-Triphosphat-Rezeptor, der den Mitogen-aktivierten Proteinkinase-Signalweg reguliert, reaktive Sauerstoffspezies und intrazelluläre Ca^{2+} -Oszillationen.⁷⁻⁹ Einige dieser Signalwege sind eng in die Regulierung des Zellwachstums eingebunden.¹⁰ Tatsächlich hat sich gezeigt, dass Ouabain stimulierende und hemmende Wirkungen auf die Lebensfähigkeit und die Proliferation von Zellen hat: Die Zugabe von relativ niedrigen Konzentrationen von Ouabain induziert die Proliferation verschiedener Zelltypen, während höhere Konzentrationen zur Apoptose führen.^{11,12}

Wir haben bereits festgestellt, dass die Verringerung des endogenen Ouabains in serumgesättigten Gewebekulturmedien durch Behandlung der Medien mit spezifischen Anti-Ouabain-Antikörpern die Lebensfähigkeit und das Wachstum mehrerer kultivierter Zelllinien verringerte.¹³ Dies deutet darauf hin, dass Ouabain als Wachstumsfaktor dient, ein Gedanke, der vor kurzem im Zusammenhang mit dem Wachstum und der Entwicklung der Niere untersucht wurde. Studien von Li et al. haben gezeigt, dass die Zugabe von exogenem Ouabain bei trächtigen Ratten die Entwicklung der embryonalen Nieren von Tieren, die eine eiweißarme Diät erhielten, rettet, was auf die Rolle des Steroids bei der Nierenentwicklung hindeutet.¹⁴ Angesichts dieser Studien stellten wir die Hypothese auf, dass zirkulierendes Ouabain bei normal trächtigen Tieren eine schützende Wirkung auf die Entwicklung und das Wachstum der Nachkommen, insbesondere der Nieren, haben könnte. Um diese Hypothese zu testen, untersuchten wir die Auswirkung einer Verringerung des zirkulierenden mütterlichen Ouabains auf das Gewicht der Nachkommen und ihrer Gewebe. Wir konnten zeigen, dass die Verringerung des mütterlichen Steroidspiegels durch die Verabreichung spezifischer Anti-Ouabain-Antikörper an trächtige Mäuse eine deutliche Auswirkung auf das Körpergewicht der Föten, die Organentwicklung und die Expression verschiedener Proteine und Signalmoleküle hatte.

Unsere Ergebnisse unterstützen die Hypothese, dass endogenes Ouabain als Wachstumshormon fungiert, das an der Regulierung des fetalen Wachstums und der Nierenentwicklung beteiligt ist.

Ergebnisse:

Reduktion von endogenem Ouabain im Kulturmedium hemmt die Lebensfähigkeit von Primärzellen

In einer kürzlich durchgeführten Studie haben wir gezeigt, dass eine Verringerung des in den Gewebekulturmedien vorhandenen Ouabains zu einer deutlichen Abnahme der Lebensfähigkeit verschiedener Zelllinien führt.¹³ Dieser Effekt wurde nun an primären menschlichen Fibroblasten, Rinder-Aortenendothelzellen und glatten Muskelzellen der Ratte getestet. Das in den Medien mit 0,5 nM vorhandene endogene Ouabain wurde reduziert

Das in den Medien mit 0,5 nM vorhandene endogene Ouabain wurde durch die Behandlung der Kulturmedien mit spezifischen Anti-Ouabain-Antikörpern um 87 % reduziert.¹³ Als Kontrolle dienten Zellen, die in Medien gewachsen waren, die zuvor mit normalem Kaninchen-IgG oder unbehandelten Medien inkubiert worden waren. Wie aus Abbildung 1 hervorgeht, war die Lebensfähigkeit der drei getesteten Primärzellen nach einer Verringerung des Ouabains im Kulturmedium ähnlich wie bei den kultivierten Zelllinien deutlich verringert.