

## Ο ανταλλάκτης Νατρίου – Υδρογόνου (Sodium/Hydrogen Exchanger, NHE) και η συμβολή του στην υπέρταση\*

Κ. Παλέτας<sup>1</sup>  
Γ. Κολιάκος<sup>2</sup>

### ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Ο ανταλλάκτης Νατρίου/Υδρογόνου (Sodium Hydrogen Exchanger, NHE) ανευρίσκεται στην κυτταρική επιφάνεια του συνόλου των κυττάρων και με την αποβολή ιόντων υδρογόνου από το εσωτερικό του κυττάρου ρυθμίζει τόσο το ενδοκυττάριο pH όσο και τον όγκο τους, και τελικά ρυθμίζει την επιβίωση του κυττάρου, αλλά και την κυτταρική προσκόλλησή, τη μετανάστευση και τον πολλαπλασιασμό τους. Μέχρι σήμερα, γνωρίζουμε την ύπαρξη 9 ισομορφών τέτοιων ανταλλακτών, αλλά ο ευρύτερα διαδεδομένος και σημαντικότερος για τη λειτουργία του κυττάρου είναι ο NHE-1. Ο NHE-1 ενεργοποιείται ή αναστέλλεται από το ενδοκυττάριο pH αλλά και από ένα σύνολο ορμονών που ενεργοποιούν πρωτεϊνικές κινάσες. Η ενεργοποίησή του συνδέεται με λειτουργίες του κυττάρου, όπως ο πολλαπλασιασμός, η διαφοροποίηση και η απόπτωση. Επίσης, ο NHE-1 χρησιμεύει και ως «σκαλωσιά» για το σχηματισμό συμπλεγμάτων μορίων σηματοδότησης. Ο ρόλος του NHE-1 στην υπέρταση δεν είναι διευκρινισμένος. Φαίνεται στα πειραματόζωα, από όπου έχουμε τις περισσότερες ενδείξεις, ότι οι διαταραχές του NHE-1 προηγούνται της υπέρτασης και δεν είναι το αποτέλεσμα της. Εντούτοις δεν έχει βρεθεί μέχρι σήμερα, αιτιοπαθογενετική σχέση τους με την υπέρταση. Ο πιθανότερος μηχανισμός φαίνεται ότι είναι η υπερενεργοποίηση του NHE-1 στα λεία μυϊκά κύτταρα των αγγείων των υπερτασικών, με αποτέλεσμα την αυξημένη συγκέντρωση του ασβεστίου ενδοκυττάρια και την αυξημένη συσταλτότητά τους.

### ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Ο ανταλλάκτης Νατρίου-Υδρογόνου (Sodium Hydrogen Exchanger, NHE) ανευρίσκεται στην κυτταρική μεμβράνη του συνόλου των κυττάρων και αποβάλλει ιόντα υδρογόνου από το εσωτερικό του, ανταλλάσσοντάς τα με ιόντα νατρίου. Με τη λειτουργία αυτή ρυθμίζει το ενδοκυττάριο pH ( $pH_i$ ), καθώς και τον όγκο των κυττάρων, συνδέοντας το  $Na^+$  με  $Cl^-$ ,  $NaHCO^-$  και  $H_2O$ , το οποίο συγκρατεί ενδοκυττάρια ρυθμίζοντας έτσι τον όγκο του κυττάρου<sup>1</sup>. Δεδομένου ότι η διακύμανση του  $pH_i$  ρυθμίζει τις δραστηριότητες πολλών βιομορίων, η διατήρησή του είναι ζωτικής σημα-

<sup>1</sup> Μονάδα Μελέτης Μεταβολικών Νοσημάτων, Β' Παθολογική Κλινική, Ιατρική Σχολή, ΑΠΘ

<sup>2</sup> Τμήμα Βιολογικής Χημείας, Ιατρική Σχολή, ΑΠΘ Θεσσαλονίκης

\* Το ανωτέρω ερευνητικό πρωτόκολλο ενισχύεται οικονομικά από την Ελληνική Αντιυπερτασική Εταιρεία βάσει απόφασης του ΔΣ στις 10-4-2006.

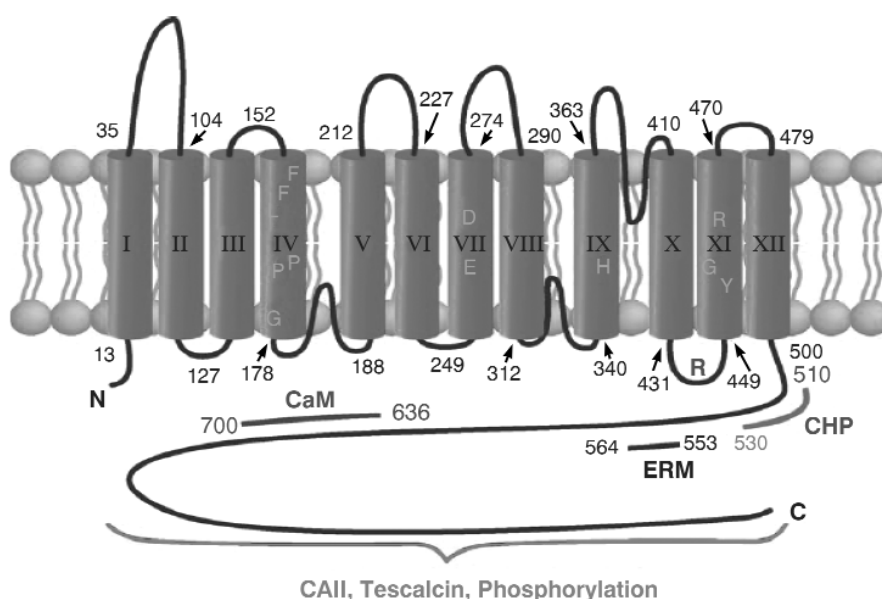
σίας για τη λειτουργία του κυτταροπλασματικού περιβάλλοντος, όπως της σταθερότητας της δράσης και της αλληλεπίδρασης των διαφόρων πρωτεϊνών του και τελικά ρυθμίζει τόσο μια σειρά από κυτταρικές λειτουργίες όσο και αυτήν την επιβίωση του κυττάρου. Από την άλλη πλευρά, μεταβολές του pH που συνοδεύονται από αλλαγή της δραστηριότητας του ανταλλάκτη NHE, διευκολύνουν άλλες κυτταρικές διαδικασίες όπως την κυτταρική προσκόλληση, τη μετανάστευση και τον πολλαπλασιασμό του κυττάρου<sup>2</sup>.

## ΔΟΜΗ

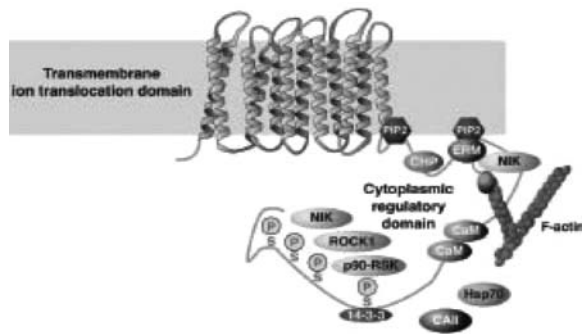
Οι ανταλλάκτες NHE είναι αρκετά διαδεδομένες πρωτεΐνες και έχουν βρεθεί σε όλους τους οργανισμούς, από τους μονοκύτταρους μέχρι τα θηλαστικά και τον άνθρωπο. Μέχρι σήμερα, γνωρίζουμε την ύπαρξη 9 ισομορφών τέτοιων ανταλλακτών<sup>3</sup>. Από το σύνολο των ανταλλακτών, ο NHE-1 είναι ο ευρύτερα διαδεδομένος και διαδραματίζει κεντρικό ρόλο στη διατήρηση του ενδοκυττάρου pH και της ομοιόστασης του όγκου των κυττάρων. Οι ισομορφές αυτές έχουν περισσότερο εντοπισμένη κατανομή, ενώ μερικές όπως οι NHE-6 και NHE-7 βρίσκονται στο κυτταρόπλασμα παρά στη μεμβράνη<sup>2</sup>. Στον άνθρωπο, το γονίδιο του NHE-1 βρίσκεται στο χρωμόσωμα 1 και υπάρχει μεγάλη ομοιολογία της ισομορφής αυτής με-

ταξύ των διαφόρων ειδών. Η ομοιολογία του NHE-1 με τις άλλες ισομορφές κυμαίνεται από 20% έως 70%. Ο NHE-1 είναι ευαίσθητος στην καταστολή του από παράγωγα της αμιλοριδης<sup>2</sup>.

Ο NHE-1 αποτελείται από 815 αμινοξέα με ένα N-τελικό υδρόφοβο τμήμα που συνδέεται με τις δομές της μεμβράνης και ένα C-τελικό υδρόφιλο τμήμα. Το συνδεδεμένο με τη μεμβράνη τμήμα έχει 12 διαμεμβρανικά τμήματα και ένα προσκολλημένο στη μεμβράνη που είναι υπεύθυνο για τη μεταφορά ιόντων. Το C-τελικό υδρόφιλο άκρο βρίσκεται μέσα στο κυτταρόπλασμα και περιέχει έναν αριθμό πλαγίων ομάδων υπολειμμάτων αμινοξέων σερίνης και θρεονίνης, τα οποία φωσφορυλιώνονται από διάφορες πρωτεϊνικές κινάσες<sup>4</sup> ως απάντηση σε μια εμμένουσα ενδοκυττάρια οξέωση, διαδραματίζοντας ένα ρυθμιστικό ρόλο. Μεταξύ των κινασών αυτών περιλαμβάνονται οι: ERK1/2, p90<sup>rsk</sup>, p160 ROCK και p38<sup>5-7</sup>. Η φωσφορυλίωση αυτή ενεργοποιεί τον NHE-1, ώστε να απαντά περισσότερο στο αλκαλικό περιβάλλον. Ένας μεγάλος αριθμός ρυθμιστικών μορίων, όπως προαναφέρθηκε, συνδέονται με το κυτταροπλασματικό τμήμα του NHE-1 μεταξύ των οποίων είναι η καλμοδουλίνη, η ομόλογη της καλσινευρίνης πρωτεΐνη, η τεσκαλσίνη, η καρβονική ανυδράση II (CAII). Οι πρωτεΐνες αυτές τροποποιούν την εξαρτώμενη από το pH δράση της NHE-1· για παράδειγμα η καλμοδουλίνη και η CAII ασκούν δράση ενεργοποιητή, ενώ η τεσκαλσίνη δραση αναστολέα (Εικ. 1).



**Εικ. 1.** Μορφολογία του NHE1. Τα απαραίτητα για τη δράση του NHE-1 αμινοξέα απεικονίζονται με κόκκινο χρώμα. Τα σημεία σύνδεσης με τις πρωτεΐνες καλμοδουλίνη (CaM), ομόλογη της καλσινευρίνης πρωτεΐνη (CHP), τεσκαλσίνη και καρβονική ανυδράση II (CaII) σημειώνονται με πράσινο χρώμα<sup>3,4</sup>.



**Εικ. 2.** Η δομή του NHE-1 και τα μέρη σηματοδότησης με τα οποία αλληλεπιδρά. Οι κινάσες που φωσφορύνουν τις θέσεις της σερίνης απεικονίζονται με το κίτρινο χρώμα<sup>61</sup>.

## ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΑ

Η βασική λειτουργία του NHE-1 είναι η ρύθμιση του ενδοκυττάρου pH. Ενεργοποιείται και αναστέλλεται η λειτουργία του κυρίως από τα επίπεδα του ενδοκυττάρου pH καθώς και από ένα σύνολο ορμονών που ενεργοποιούν τις πρωτεϊνικές κινάσες. Η ενδοκυττάρια οξύτητα είναι το μείζον ερέθισμα για την ενεργοποίησή του και, ενώ παραμένει αδρανής υπό φυσιολογικές συνθήκες, ενεργοποιείται τάχιστα όταν πέφτει το pH. Περισσότερα από ένα πρωτόνια συνδέονται με τον NHE-1 κατά τη διάρκεια του κύκλου της μεταφοράς ιόντων. Αποδείχθηκε ότι υπάρχει μια θέση σύνδεσης που δεν συνδέεται με τη μεταφορά ιόντων, η οποία όμως προκαλεί πολύ μεγαλύτερη ενεργοποίηση του NHE-1 από εκείνη που θα αναμενόταν από την πύση του pH μόνο<sup>8</sup>.

Η ενεργοποίηση του NHE-1, πέραν της ρύθμισης του ενδοκυττάρου pH και του όγκου του κυττάρου, συνδέεται και με άλλες λειτουργίες του κυττάρου όπως ο πολλαπλασιασμός, η διαφοροποίηση και η απόπτωση.

### NHE-1 και κυτταρικός πολλαπλασιασμός

Φαίνεται ότι ο NHE-1 εμπλέκεται στη ρύθμιση του κυτταρικού πολλαπλασιασμού στα μη-καρκινικά κύτταρα, όπως και στα καρκινικά, παρόλο ότι ο ρόλος του είναι μάλλον συμπληρωματικός, παρά υποχρεωτικός<sup>9</sup>. Εις επίρρωση της άποψης ότι η ενεργοποίηση του NHE-1 διεγείρει τον κυτταρικό πολλαπλασιασμό, η φαρμακολογική αναστολή του τον αναστέλλει<sup>10</sup> και η εξωγενής έκφραση του NHE-1 επιταχύνει τον πολλαπλασιασμό<sup>11</sup>. Το ερώτημα που τίθεται είναι με ποιο μηχανισμό ο NHE-1 τροποποιεί τον κυτταρικό πολλαπλασια-

σμό. Καταρχήν, φαίνεται ότι γίνεται μέσω της λειτουργίας του της σχετιζόμενης με τη μεταφορά ιόντων<sup>1</sup> και όχι του σχηματισμού του κυτταροσκελετού. Η μέσω του NHE-1 αύξηση του ενδοκυττάρου pH (pH<sub>i</sub>) φαίνεται ότι διαδραματίζει έναν επιτρεπτικό ρόλο στην προαγωγή του κυτταρικού κύκλου (1). Είναι επίσης γνωστό ότι η αύξηση του pH<sub>i</sub> μπορεί να επιταχύνει τον κυτταρικό πολλαπλασιασμό διεγείροντας τη σύνθεση πρωτεϊνών, RNA και DNA<sup>12</sup>.

Αναφορικά με το ρόλο του κυτταρικού όγκου, είναι γνωστό ότι η κυτταρική διάτρωση εξαρτάται κατά ένα ποσοστό από την αύξηση του όγκου του κυττάρου και την ενδοκυττάρια είσοδο ανόργανων ιόντων, δράσεις που ρυθμίζονται σε σημαντικό βαθμό από τον NHE-1<sup>13,14</sup>. Και αντίστροφα, η εξέλιξη του κυτταρικού κύκλου αναστέλλεται στα συρρικνωμένα κύτταρα, μια κατάσταση που αναμένεται να διορθωθεί από τη δράση του NHE-1<sup>15</sup>. Έτσι, φαίνεται ότι οι μεταβολές τόσο του pH<sub>i</sub> όσο και του κυτταρικού όγκου, που ρυθμίζονται σε σημαντικό βαθμό από τον NHE-1 μπορεί να τροποποιήσουν τον κυτταρικό πολλαπλασιασμό. Επίσης, ο κυτταρικός πολλαπλασιασμός είναι σημαντικά ελαττωμένος σε κύτταρα με έλλειψη του NHE-1<sup>1</sup>. Η διαφοροποίηση του κυττάρου δεν λαμβάνει χώρα σε κύτταρα με έλλειψη ή καταστολή του NHE-1<sup>16</sup>. Εξάλλου, τα κύτταρα με ενεργοποιημένο τον NHE-1 παρουσιάζουν σημαντική αντίσταση στα αποπτωτικά ερεθίσματα. Ποντίκια με έλλειψη του NHE-1 παρόλο ότι επιζούν, παρουσιάζουν καθυστέρηση στην ανάπτυξη και μειωμένα ποσοστά επιβίωσης. Επιπλέον, εμφανίζουν σοβαρή νευρολογική έκπτωση με επιληψία και αταξία<sup>17</sup>.

### NHE-1 και κυτταρικός θάνατος

Από ευρήματα που προέρχονται από τις μελέτες μεγάλης ποικιλίας κυττάρων, διαπιστώθηκε ο σημαντικός ρόλος που διαδραματίζει ο NHE-1 στην τροποποίηση ή τη ρύθμιση του προγραμματισμένου κυτταρικού θανάτου (ΠΚΘ), ο οποίος δεν είναι απαραίτητα μόνο η απόπτωση<sup>18</sup>. Έτσι, βρέθηκε ότι σε ορισμένα κύτταρα, είτε η ενδογενής αναστολή του NHE-1, είτε η διάσπασή του μέσω της κασπάσης-3 συνέβαλε στον αποπτωτικό θάνατό τους<sup>19,20</sup>. Επίσης, βρέθηκε ότι η φαρμακευτική αναστολή της λειτουργίας του NHE-1 προκάλεσε από μόνη της ή επιτάχυνε τον αποπτωτικό κυτταρικό θάνατο, τόσο σε καρκινικά όσο και σε μη-καρκινικά κύτταρα<sup>21-24</sup>. Λαμβάνοντας υπόψη τους μη-

χανισμούς με τους οποίους ο NHE-1 τροποποιεί τον προγραμματισμένο κυτταρικό θάνατο, φαίνεται ότι εμπλέκονται τόσο οι λειτουργίες του που σχετίζονται με την κυτταροδομή, όσο και οι σχετικές με τη μεταφορά ιόντων.

Καταρχήν, η ενδοκυττάρια οξέωση αποτελεί την πρωϊμότερη διαταραχή στον προγραμματισμένο κυτταρικό θάνατο και η δράση του NHE-1 στην αντιρρόπηση της ενδοκυττάριας οξέωσης, πιθανόν να είναι ο σημαντικότερος μηχανισμός που προστατεύει από τον ΠΚΘ<sup>20,23,25</sup>. Ο πλέον σημαντικός λόγος για τη διόρθωση του όξινου pH, φαίνεται να σχετίζεται με το γεγονός ότι το ιδανικό περιβάλλον για να δράσουν οι ενεργοποιητές του κυτταρικού θανάτου, όπως οι ενδονουκλεάσες, οι κασπάσες και οι καθεψίνες, είναι το όξινο<sup>25</sup>.

Δεύτερον, η συρρίκνωση του κυττάρου αποτελεί το χαρακτηριστικό του ΠΚΘ και η οσμωτική συρρίκνωση μπορεί από μόνη της να τον προκαλέσει. Ως εκ τούτου, η ικανότητα του NHE-1 να ρυθμίζει τον κυτταρικό όγκο, φαίνεται ότι τον αντιρροπεί<sup>22,26,27</sup>. Αντίθετα με το ρόλο του NHE-1 να αντιρροπεί τον ΠΚΘ που προκαλείται από διάφορα ερεθίσματα, είναι παράδοξο το γεγονός ότι η ενεργοποίησή του συμβάλλει ξεκάθαρα στον κυτταρικό θάνατο που προέρχεται από ισχαιμία/επαναιμάτωση, όπως για παράδειγμα στον εγκέφαλο και στο μυοκάρδιο<sup>28</sup>. Η διαφορά αυτή εξηγείται εν μέρει από το γεγονός ότι στα ισχαιμικά κύτταρα, η ενεργοποίηση του NHE-1 αυξάνει το ενδοκυττάριο νάτριο  $[Na^+]_i$  με επακόλουθο την αύξηση συγκέντρωσης του ενδοκυττάρου ασβεστίου  $[Ca^{2+}]_i$  που πρακτικά προκαλεί έμμεση πτώση του  $pH_i$ <sup>28</sup>. Έχει περιγραφεί ότι στον κυτταρικό θάνατο που προκαλείται από σοβαρή ισχαιμία/ υποξία εμπλέκονται η απόπτωση, η νέκρωση και διάφοροι άλλοι τύποι προγραμματισμένου κυτταρικού θανάτου, πέραν της κλασικής απόπτωσης. Δεδομένου ότι η απόπτωση είναι μια ATP-εξαρτώμενη διαδικασία, φαίνεται ότι οι διαφορές αυτές αποδίδονται τουλάχιστον εν μέρει στο βαθμό ελάττωσης της ATP<sup>28</sup>. Υπάρχουν αποδείξεις για το ρόλο του NHE-1 στην απόπτωση και τη νέκρωση από την ισχαιμία. Από την άλλη, ο NHE-1 προκαλεί οίδημα του κυττάρου κατά την ισχαιμία του μυοκαρδίου<sup>29</sup> και του εγκεφάλου<sup>30</sup>, που φαίνεται να συμβάλλει στον κυτταρικό θάνατο υπό αυτές τις συνθήκες, μια υπόθεση που ενισχύεται από το γεγονός ότι ο νεκρωτικός μυοκαρδιακός θάνατος περιορίζεται από τη φαρμακευτική αναστολή της λειτουργίας του NHE-1<sup>31</sup>. Επιπρόσθετα, οι αναστολές του NHE-1 περιορί-

ζουν το μυοκαρδιακό θάνατο μέσω απόπτωσης<sup>32</sup>. Από τις λίγες σχετικά μελέτες που υπάρχουν σχετικά με τους πιθανούς μηχανισμούς της —μέσω διέγερσης του NHE-1— πρόκλησης απόπτωσης στα ισχαιμικά μυοκαρδιακά κύτταρα, αυτή αποδίδεται στην αύξηση της συγκέντρωσης του  $Ca^{2+}$  στα μιτοχόνδρια, ως αποτέλεσμα της αυξημένης ενδοκυττάριας συγκέντρωσής του από τη λειτουργία του NHE-1<sup>33</sup>.

### ***NHE-1 και κυτταρική μετανάστευση και προσκόλληση***

Η μετανάστευση των κυττάρων αποτελεί τη βάση για πολλές φυσιολογικές και παθοφυσιολογικές διαδικασίες, όπως η εμβρυογένεση, η ανοσολογική άμυνα, η επούλωση των τραυμάτων και η μετάσταση<sup>34</sup>. Για την κυτταρική μετανάστευση απαιτείται: α) η κατευθυνόμενη επαναδιοργάνωση του κυτταροσκελετού<sup>35,36</sup>, β) η δραστηριότητα των διαύλων ιόντων και των μεταφορέων, γ) η ανακύκλωση της μεμβράνης με έξω- και ενδοκύτωση<sup>37</sup> και δ) ο ομοιογενής σχηματισμός τοπικών σημείων προσκόλλησης με την εξωκυττάρια θεμέλια ουσία μέσω μοριακών υποδοχέων, όπως οι ιντεγκρίνες<sup>38-42</sup> ή ο CD44<sup>43</sup>. Οι τοπικές συνδέσεις προσκόλλησης περιλαμβάνουν τις ιντεγκρίνες, την κινάση των εστιών προσκόλλησης (FAK), την ταλίνη, βινκουλίνη, παξιλίνη καθώς και άλλες πρωτεΐνες που βρίσκονται στο δίκτυο της ακτίνης. Ο NHE-1 αποτελεί μέρος των τοπικών αυτών συνδέσεων<sup>44</sup> με έμμεση σύνδεση μέσω των ιντεγκρινών. Από μια πληθώρα μελετών φαίνεται ότι ο NHE-1 αποτελεί βασικό συστατικό της κυτταρικής μετανάστευσης<sup>45-47</sup>. Εξάλλου, η φαρμακολογική αναστολή της λειτουργίας του αναστέλλει τη μετανάστευση των ενδοθηλιακών κυττάρων<sup>48</sup>, των ινοβλαστών και των ουδετερόφιλων<sup>49</sup>. Οι μηχανισμοί με τους οποίους ο NHE-1 συμβάλλει στην κυτταρική μετανάστευση είναι πολλοί. Πιθανόν συνδέεται με τον κυτταρικό όγκο, τη σταθερότητα του κυτταροσκελετού μέσω του ενδοκυττάρου pH, την αγκίστρωση του κυτταροσκελετού με την κυτταρική μεμβράνη, τη μεσολάβηση με μόρια σηματοδότησης και με τη ρύθμιση έκφρασης γονιδίων<sup>1,50,51</sup>.

### ***NHE-1 και κυτταροσκελετός***

Ο NHE-1 κατέχει σημαντικό ρόλο στην οργάνωση του κυτταροσκελετού και τη μετανάστευση του κυττάρου. Σε μερικούς κυτταρικούς τύπους το τελικό τμήμα του NHE-1 αποτελεί σημείο σύνδε-

σης με τα νημάτια της ακτίνης μέσω του συμπλέγματος των πρωτεϊνών εξορίνη, ραδιξίνη και μοεσίνη (ERM). Μετάλλαξη των αμινοξέων στο σημείο αυτό ή αναστολή του NHE-1 αναστέλλει την προσκόλληση και μετανάστευση των κυττάρων<sup>52</sup>.

Ο NHE-1 χρησιμεύει ως «σκαλωσιά» για το σχηματισμό συμπλεγμάτων μορίων σηματοδότησης. Το καρβοξυτελικό άκρο του NHE-1 συνδέεται με ένα σύνολο πρωτεϊνών-μεταβιβαστών με διαφορετική λειτουργία που όμως συνεργάζονται, ώστε να ρυθμίζεται η ανταλλαγή των ιόντων  $\text{Na}^+/\text{H}^+$ . Το κυτταροπλασματικό τμήμα που βρίσκεται δίπλα στη μεμβράνη συνδέεται με την 4,5-διφωσφορική φωσφατιδύλ-ινοσιτόλη ( $\text{PIP}_2$ )<sup>53</sup>, την  $\text{CHP}$ <sup>54</sup> και το  $\text{ERM}$ <sup>50</sup>. Το  $\text{COOH}$ -τελικό τμήμα του NHE-1 καταλαμβάνεται από σερίνη που φωσφορυλιώνεται από κινάσες της σερίνης/θρεονίνης που οδηγούν σε μονοπάτια μεταβίβασης του σήματος. Σε απάντηση στην ενεργοποίηση των υποδοχέων από παράγοντες ανάπτυξης, φωσφορυλιώνεται το καρβοξυ-τελικό τμήμα του NHE-1 από την κινάση τη σχετιζόμενη με την ERK, p90RSK<sup>55</sup> και την κινάση που μοιάζει με το Ste20 και αλληλεπιδρά με το Nck (NIK)<sup>52</sup>. Ο NHE-1 ενεργοποιείται από την κινάση Rho 1 (ROCK) μετά από ενεργοποίηση των υποδοχέων της ιντεγκρίνης<sup>7</sup> και των υποδοχέων G protein-coupled για τη θρομβίνη και το λυσοφωσφατιδικό οξύ<sup>1,7</sup>. Η φωσφορυλίωση της σερίνης του καρβοξυ-τελικού τμήματος αυξάνει τη μετατόπιση των ιόντων από το διαμεμβρανικό τμήμα και η φωσφορυλίωση της Ser<sup>703</sup> από την p90RSK προάγει την απευθείας προσκόλληση της πρωτεΐνης 14-3-3β<sup>56</sup>. Η NIK φωσφορυλιώνει το καρβοξυ-τελικό τμήμα του NHE-1, γεγονός που εξαρτάται από την απευθείας σύνδεση του ρυθμιστικού τμήματος της NIK με το τελικό τμήμα του NHE-1. Σε γειτνίαση βρίσκονται θέσεις σύνδεσης με την καλμοδουλίνη που χαρακτηρίζονται ως υψηλής και χαμηλής συγγένειας<sup>4</sup>. Άλλες πρωτεΐνες που συνδέονται απευθείας με το καρβοξυ-τελικό τμήμα του NHE-1 είναι η πρωτεΐνη heat shock-70 (HSP-70)<sup>57</sup> και η καρβονική ανυδράση II<sup>58</sup>, δεν έχουν καθοριστεί όμως τα σημεία σύνδεσης.

Σε πολλά κύτταρα ο NHE-1 βρίσκεται μόνο σε συγκεκριμένες θέσεις της κυτταρικής μεμβράνης, όπως για παράδειγμα στην πλευρική επιφάνεια των επιθηλιακών κυττάρων του νεφρού<sup>59</sup> ή στα ψευδοπόδια των ινοβλαστών<sup>60</sup>. Ενώ στα περισσότερα κύτταρα δεν έχουν ταυτοποιηθεί τα μόρια εκείνα που καθορίζουν την θέση του NHE-1 στην κυτταρική μεμβράνη, στους ινοβλάστες είναι

γνωστό ότι η τοποθέτηση του NHE-1 στα ψευδοπόδια οφείλεται στη σύνδεση του με το ERM. Στη σύνδεση αυτή φαίνεται να εμπλέκεται η  $\text{PIP}_2$  μέσω τροποποίησης του καρβοξυ-τελικού τμήματος του NHE-1 ώστε να μπορεί να συνδεθεί η ERM και άλλες πρωτεΐνες<sup>61</sup> με τον NHE-1.

Πολλά από τα μόρια σηματοδότησης που συνδέονται με τον NHE-1 τροποποιούν τη δράση του ανταλλάκτη (κινάσες, καλμοδουλίνη, 14-3-3,  $\text{PIP}_2$ ,  $\text{CHP}$ ) και κάποια καθορίζουν τη θέση του NHE-1 (πρωτεΐνες ERM,  $\text{PIP}_2$ )<sup>61</sup>.

## ΠΙΘΑΝΕΣ ΘΕΡΑΠΕΥΤΙΚΕΣ ΕΦΑΡΜΟΓΕΣ

Ο NHE-1 λόγω της συμμετοχής του σε πολλές βιολογικές λειτουργίες φαίνεται ότι διαδραματίζει ρόλο στην παθογένεια πολλών παθολογικών καταστάσεων. Στο μυοκάρδιο ενεργοποίηση του NHE-1 οδηγεί σε αυξημένη ενδοκυττάρια συγκέντρωση νατρίου, η οποία μέσω του ανταλλάκτη  $\text{Na}^+/\text{Ca}^+$  προκαλεί αύξηση της ενδοκυττάριας συγκέντρωσης του ασβεστίου με αποτέλεσμα τον κυτταρικό θάνατο<sup>62</sup>. Η βλάβη αυτή μπορεί να ανασταλεί με τη χρησιμοποίηση αναστολέων της ενεργοποίησης του NHE-1<sup>63</sup>. Επίσης, από πειραματικές μελέτες αποδείχθηκε ότι στην καρδιακή υπερτροφία, ο ανταλλάκτης  $\text{Na}^+/\text{H}^+$  είναι διεγερμένος. Η χορήγηση αναστολέων του NHE-1 στα πειραματόζωα μειώνει την υπερτροφία, την καρδιακή ανεπάρκεια και τον κυτταρικό ανασχηματισμό<sup>64</sup>.

## Ο ΑΝΤΑΛΛΑΚΤΗΣ ΝΑΤΡΙΟΥ – ΥΔΡΟΓΟΝΟΥ ΣΤΗΝ ΥΠΕΡΤΑΣΗ

Ο ρόλος του NHE-1 στην υπέρταση είναι ένα ερώτημα διπλής κατεύθυνσης. Η πλειοψηφία των ευρημάτων στη βιβλιογραφία αναφέρονται σε συσχετίσεις υπερτασιακών καταστάσεων με, είτε άμεσες μετρήσεις του NHE-1 σε πειραματόζωα (δραστικότητα, πρωτεΐνες, μεταγραφές) είτε έμμεσες ενδείξεις σε ανθρώπους (ανταλλαγή  $\text{Na}^+/\text{Li}^+$  ή  $\text{Na}^+/\text{H}^+$  σε ερυθροκύτταρα, λεμφοκύτταρα, αιμοπετάλια). Δεν είναι καθόλου βέβαιο ότι οι ενδείξεις αυτές στους ανθρώπους, πράγματι αντανάκλουν μόνο στον NHE-1· αλλά ακόμη και αν θεωρηθεί πραγματικό γεγονός, δεν καθορίζουν αιτιοπαθογενετικότητα της υπέρτασης, ούτε είναι εύκολο να καθορισθεί η σημασία τους. Από παρατηρήσεις σε πειραματικά μοντέλα ζώων με πολυγονιδιακές υπερτάσεις αποδείχθηκε ότι οι μεταβολές στον NHE-1 προηγούνταν της εμφάνισης της υπέρ-

τασης. Από τις παρατηρήσεις αυτές φαίνεται ότι αποκλείεται οι ανωμαλίες στον NHE-1 να είναι το αποτέλεσμα της υπέρτασης, εντούτοις μέχρι σήμερα δεν καθορίστηκε εάν σχετίζονται αιτιολογικά με την υπέρταση ή είναι παράλληλα φαινόμενα<sup>65</sup>.

Τα περιγραφόμενα σήμερα μοντέλα πιθανής εμπλοκής του NHE στην υπέρταση εντοπίζονται κυρίως στις δύο ισομορφές NHE-1 και NHE-3. Η διαγονιδιακή υπερέκφραση του NHE-1 οδηγεί τα ποντίκια σε νατριο-ευαίσθητη υπέρταση<sup>66</sup>. Η πρωτοπαθής υπέρταση συνοδεύεται από αυξημένη δραστηριότητα του NHE-1 σε πειραματόζωα. Αυξημένη δραστηριότητα του NHE-1 παρατηρείται, επίσης, και στα κύτταρα του περιφερικού αίματος σε ασθενείς με πρωτοπαθή υπέρταση, καθώς και στα κύτταρα του περιφερικού αίματος σε ασθενείς με πρωτοπαθή υπέρταση<sup>67</sup>. Αναλύσεις του γονιδιώματος έδειξαν ότι μεταλλάξεις στη γονιδιακή περιοχή του NHE-1 δεν συνδέονται με αυξημένη συχνότητα ιδιοπαθούς υπέρτασης<sup>68</sup>. Η αυξημένη δραστηριότητα του NHE-1 που μερικές φορές παρατηρείται στην ιδιοπαθή υπέρταση, όταν υπάρχει, αποδίδεται μάλλον σε ρυθμιστικούς μηχανισμούς που δεν έχουν ακόμη διευκρινισθεί.

Ένας πιθανός μηχανισμός που συνδέει τον NHE-1 με την υπέρταση είναι η υπερενεργοποίησή του στα λεία μυϊκά κύτταρα των αγγείων. Το γεγονός αυτό προκαλεί υπέρμετρη ενδοκυττάρια συγκέντρωση νατρίου, υπολειτουργία ή αναστροφή της λειτουργίας του ανταλλάκτη  $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ , αυξημένη κυτταροπλασματική συγκέντρωση  $\text{Ca}^{2+}$ , και σύσπαση των λείων μυϊκών κυττάρων. Επίσης, η χρόνια αυξημένη δραστηριότητα του NHE-1 οδηγεί σε υπετροφία και πολλαπλασιασμό των λείων μυϊκών κυττάρων<sup>69</sup>. Ο NHE-1 μπορεί επίσης να ενεργοποιείται και από την αυξημένη παρουσία διακυτταρικών σηματοδοτικών μορίων που σχετίζονται με την παθογένεση της υπέρτασης, όπως π.χ. η αγγειοτενσίνη. Επίσης δεν αποκλείεται και συμμετοχή της αυξημένης συγκέντρωσης ελευθέρων ριζών που παρατηρείται στην υπέρταση. Όμως τα τελευταία αυτά σημεία έχουν μελετηθεί ελάχιστα.

Επομένως, απαιτούνται πολύ περισσότερες μελέτες, ώστε να διευκρινισθεί ο ακριβής ρόλος του ανταλλάκτη NHE, τόσο στην παθογένεια όσο και πιθανώς, στην αντιμετώπιση των επιπλοκών της υπέρτασης.

## SUMMARY

**Paletas K, Koliakos G. The role of Sodium/ Hydrogen Exchanger (NHE) in hypertension. *Arterial Hypertension* 2007; 16: 186-193.**

Sodium/Hydrogen Exchanger (NHE) is located on the cellular surface of whole body cells, regulating intracellular pH and cellular volume by exchanging one hydrogen with one sodium cation. The activation of NHE is associated with a variety of cellular functions like cellular adhesion, migration and proliferation and cellular death. Since its discovery, 9 isoforms have been identified, but the most widely spread and the most important for the cellular functions is NHE-1. Intracellular pH is the main activator factor of NHE-1 function, but many hormones modulating protein kinases are also activating NHE-1 function. Its activation is associated with many cellular functions such as proliferation, differentiation and apoptosis. Moreover, NHE plays a role of "scaffold" for the building of various intracellular signaling molecules. The exact role of NHE-1 in hypertension remains to be resolved. In experimental animals NHE-1 activation precedes hypertension and is not its result. However no cause result relationship between hypertension and NHE-1 activation has been yet established. The most prominent mechanism seems to be the activation of NHE-1 in smooth muscle vascular cells of patients with hypertension resulting in increased intracellular calcium cation concentration and increased contractility.

## BIBΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Putney L, Denker S, Barber D. The changing face of the  $\text{Na}^+/\text{H}^+$  exchanger, NHE1: structure, regulation, and cellular actions. *Ann Rev Pharmacol Toxicol* 2002; 42: 527-52.
2. Orłowski J, Grinstein S. Diversity of the mammalian sodium/proton exchanger SLC9 gene family. *Pflug Archiv* 2004; 447(5): 549-65.
3. Fliegel L. The  $\text{Na}^+/\text{H}^+$  exchanger isoform 1. *The International Journal of Biochemistry and Cell Biology* 2005; 37: 33-7.
4. Wakabayashi S, Pang T, Su X, Shigekawa M. A novel topology model of the human  $\text{Na}^+/\text{H}^+$  exchanger isoform 1. *J Biol Chem* 2000; 275: 7942 - 9.
5. Khaled A, Moor A, Li A, Kim K, Ferris D, Muegge K, et al. Trophic factor withdrawal: p-38 mitogen-activator protein kinase activates NHE1, which induces intracellular alkalinization *Mol Cell Biol* 2001; 21: 7545-57.
6. Moor A, Gan X, Karmazyn M, Fliegel L. Protein Kinase mediated regulation of the  $\text{Na}^+/\text{H}^+$  exchanger isoform 1 (NHE1) in ischemic and ischemic/reperfused rat heart. *J Biol Chem* 2001; 27: 16113-22.
7. Tominanga T, Barber D. NHE1 acts downstream of RhoA to regulate integrin induced cell adhesion and spread

- ding. *Mol Biol Cell* 1998; 9: 2287-303.
8. *Avkiran M, Haworth R.* Regulatory effects of G protein-coupled receptors on cardiac sarcolemmal Na<sup>+</sup>/H<sup>+</sup> exchanger activity: Signalling and significance. *Cardiovasc Res* 2003; 57: 942-52.
  9. *Shrode L, Tapper H, Grinstein S.* Role of intracellular pH in proliferation, transformation, and apoptosis. *J Bioenerg Biomembranes* 1997; 29: 393-9.
  10. *Delvaux M, Bastie M, Chentoufi J, Cragoe E, Vaysse N, Ribet A.* Amiloride and analogues inhibit Na<sup>+</sup>/H<sup>+</sup> exchange and cell proliferation in AR42J pancreatic cell line. *Am J Physiol* 1990; 259: G842-G9.
  11. *Kapus A, Grinstein S, Wasan S, Kandasamy R, Orlowski J.* Functional characterization of three isoforms of the Na<sup>+</sup>/H<sup>+</sup> exchanger stably expressed in Chinese hamster ovary cells. ATP dependence, osmotic sensitivity, and role of cell proliferation. *J Biol Chem* 1994; 269: 23544-52.
  12. *Madshus I.* Regulation of intracellular pH in eukaryotic cells. *Biochem J* 1988; 250: 1-8.
  13. *O'Neill W.* Physiological significance of volume-regulatory transporters. *Am J Physiol* 1999; 276: C995-C1011.
  14. *Rouzaire-Dubois B, O'Regan S, Dubois J.* Cell size-dependent and independent proliferation of rodent neuroblastoma x glioma cells. *J Cell Physiol* 2005; 203: 243-50.
  15. *Dmitrieva N, Michea L, Rocha G, Burg M.* Cell cycle delay and apoptosis in response to osmotic stress. *Comb Biochem Physiol A Mol Integr Physiol* 2001; 130: 411-20.
  16. *Wang D, Balkovetz D, Wornock D.* Mutational analysis of transmembrane histidines in the amiloride sensitive Na<sup>+</sup>/H<sup>+</sup> exchanger. *Am J Physiol* 1995; 269: C392-C402.
  17. *Bell S, Schreiner C, Schultheis P, et al.* Targeted disruption of the murine NHE1 locus induces ataxia, growth retardation and seizures. *Am J Physiol* 1999; 276: C788-C95.
  18. *Leist M, Jaattela M.* Four deaths and a funeral: from caspases to alternative mechanisms. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2001; 2: 589-98.
  19. *Lang F, Madlung J, Bock J, et al.* Inhibition of Jurkat-T-lymphocyte Na<sup>+</sup>/H<sup>+</sup> exchanger by CD95 (Fas/Apo-1)-receptor stimulation. *Pflugers Arch* 2000; 440: 902-7.
  20. *Wu K, Khan S, Lajhe-Reddy S, et al.* Renal tubular epithelial cell apoptosis is associated with caspase cleavage of the NHE-2 Na<sup>+</sup>/H<sup>+</sup> exchanger. *Am J Physiol Renal Physiol* 2003; 284: F829-F39.
  21. *Cho Y, Lee K, Lee S, et al.* Amiloride potentiates TRAIL-induced tumor cell apoptosis by intracellular acidification-dependent Akt inactivation. *Biochem Biophys Res Commun* 2005; 326: 752-8.
  22. *Nylandsted J, Jaattela M, Hoffmann E, Pedersen S.* Hsp70 protects fibrosarcoma cells against shrinkage-induced programmed cell death via mechanism independent of effects on cell volume-regulatory membrane transport proteins. *Pflugers Arch* 2004; 449: 175-85.
  23. *Rich I, Worthington-White D, Garden O, Musk P.* Apoptosis of leukemic cells accompanies reduction in intracellular pH after targeted inhibition of the Na<sup>+</sup>/H<sup>+</sup> exchanger. *Blood* 2000; 95: 1427-34.
  24. *Thangarayu M, Sharma K, Liu D, Shen S, Srikant C.* Interdependent regulation of intracellular acidification and SHP-1 in apoptosis. *Cancer Res* 1999; 59: 1649-54.
  25. *Matsuyama S, Llopis J, Deveraux Q, Tsien R, Reed J.* Changes in intramitochondrial and cytosolic pH: early events that modulate caspase activation during apoptosis. *Nat Cell Biol.* 2000; 2: 318-25.
  26. *Bortner C, Cidlowski J.* Absence of volume regulatory mechanisms contributes to the rapid activation of apoptosis in thymocytes. *Am J Physiol* 1996; 271: C950-C61.
  27. *Friis M, Friborg C, Schneider L, et al.* Cell shrinkage as a signal to apoptosis in NIH 3T3 fibroblasts. *J Physiol* 2005; 567: 427-43.
  28. *Pedersen S, O'Donnell M, Anderson S, Cala P.* Electro-neutral Na<sup>+</sup> transport in health and disease: role Na<sup>+</sup>/H<sup>+</sup> exchange and a Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>, 2Cl<sup>-</sup> cotransport. *Am J Physiol Regul Integr Comb Physiol* 2006; 291: R1-25.
  29. *Askenasy N, Vivi A, Tassini M, Navon G.* The relation between cellular sodium, pH and volumes and the activity of Na<sup>+</sup>/H<sup>+</sup> antiport during hypothermic ischemia: multinuclear NMR studies of rat hearts. *J Mol Cell Cardiol* 1996; 28: 589-601.
  30. *Kintner D, Su G, Lenart B, et al.* Increased tolerance to oxygen and glucose deprivation in astrocytes from Na<sup>+</sup>/H<sup>+</sup> exchanger isoform 1 null mice. *Am J Physiol Cell Physiol* 2004; 287: C12-C21.
  31. *Otani H, Uchiyama T, Yamamura T, et al.* Effects of Na<sup>+</sup>/H<sup>+</sup> exchange inhibitor cariporide (HOE 642) on cardiac function and cardiomyocyte cell death in rat ischemic-reperfused heart. *Clin Exp Pharmacol Physiol* 2000; 27: 387-93.
  32. *Chakrabarti S, Hoque A, Karmazyn M.* A rapid ischemia-induced apoptosis in isolated rat hearts and its attenuation by the sodium-hydrogen exchange inhibitor HOE 642 (cariporide). *J Mol Cell Cardiol* 1997; 29: 3169-74.
  33. *Teshima Y, Akao M, Jones S, Marban E.* Cariporide, a selective Na<sup>+</sup>/H<sup>+</sup> exchange inhibitor, inhibits the mitochondrial death pathway. *Circulation* 2003; 27: 729-42.
  34. *Stock C, Schwab A.* Role of the Na<sup>+</sup>/H<sup>+</sup> exchanger NHE1 in cell migration. *Acta Physiol* 2006; 187: 149 - 57.
  35. *Müchison T, Cramer L.* Actin-based cell motility and cell locomotion *Cell* 1996; 84: 371-9.
  36. *Diez S, Gerisch G, Anderson K, Miller-Taubenberger A, Bretschneider T.* Subsecond reorganization of the actin network in cell motility and chemotaxis. *Proc Natl Acad Sci* 2005; 102: 7601-6.
  37. *Bretscher M, Aguado-Velasco C.* membrane traffic during cell locomotion. *Curr Opin Cell Biol* 1998; 10: 537-41.
  38. *Beningo K, Dembo M, Kaverina I, Small J, Wang Y.* Nascent focal adhesions are responsible for the generation of strong propulsive forces in migrating fibroblasts. *J Cell Biol* 2001; 153: 881-7.
  39. *Jalali S, Del Pozo M, Chen K, et al.* Integrin-mediated

- mechanotransduction requires its dynamic interaction with specific extracellular matrix (ECM) ligands. *Proc Natl Acad Sci* 2001; 98: 1042-6.
40. *Webb D, Parsons J, Horwitz A.* Adhesion assembly, disassembly and turnover in migrating cell-over and over and over again. *Nature Cell Biol* 2002; 4: E97-E100.
  41. *Kostidou E, Koliakos G, Alamdari D, Paletas K, Tsapas A, Kaloyianni M.* Enhanced laminin carbonylation by monocytes in diabetes mellitus. *Clin Bioch* 2007; 40: 671-9.
  42. *Koliakos G, Trachana V, Gaitatzi M, Dimitriadou A.* Phosphorylation of laminin-1 by protein kinase C *Mol Cells* 2001; 11: 179-85.
  43. *Verfaillie C, Benis A, Iida J, McGlave P, McCarthy J.* Adhesion of committed human hematopoietic progenitors to synthetic peptides from the C-terminal heparin-binding domain of fibronectin: cooperation between the integrin  $\alpha 2\beta 1$  and the CD44 adhesion receptor. *Blood* 1994; 84: 1802-11.
  44. *Stock C GB, Hauck CR, Arnold H, et al.* Migration of human melanoma cells depends on extracellular pH and  $\text{Na}^+/\text{H}^+$  exchange. *J Physiol* 2005; 567: 225-38.
  45. *Reshkin S, Bellizzi A, Albarani V, et al.* Phosphoinositide 3-kinase is involved in th tumor-specific activation of human breast cancer cell  $\text{Na}^+/\text{H}^+$  exchange, motility, and invasion induced by serum deprivation. *J Biol Chem* 2000; 275: 5361-9.
  46. *McHardy L, Sinotte R, Troussard A, et al.* The tumor invasion inhibitor dihydromotuporamine C activates Rho, remodels stress fibers and focal adhesions, and stimulates sodium-proton exchange. *Cancer Res* 2004; 64: 1468-74.
  47. *Paradiso A, Cardone R, Bellizzi A, et al.* The  $\text{Na}^+/\text{H}^+$  exchanger-1 induces cytoskeletal changes involving reciprocal RhoA and Rac1 signaling, resulting in motility and invasion in MDA-MB-435 cells. *Breast Cancer Res* 2004; 6: R616-R28.
  48. *Bussolino F, Wang J, Turrini F, et al.* Stimulation of  $\text{Na}^+/\text{H}^+$  exchanger in human endothelial cells activated by granulocyte-macrophage-colony-stimulating factor. Evidence for a role in proliferation and migration. *J Biol Chem* 1989; 264: 18284-7.
  49. *Roesengren S, Henson P, Worthen G.* Migration associated volume changes in neutrophils facilitate the migratory process in vitro. *Am J Physiol* 1994; 267: C1623 - C32.
  50. *Denker S, Barber D.* The changing face of Na/H exchanger. NHE1: structure, regulation and cellular actions. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 2002; 42: 527-52.
  51. *Denker S, Barber D.* Cell migration requires both ion translocation and cytoskeletal anchoring by them Na-H exchanger NHE1. *J Cell Biol* 2002; 159: 1087-96.
  52. *Yan W, Nehrke K, Choi J, Barber D.* The Nck interactive kinase (NIK) phosphorylates NHE1 and regulates NHE1 activation by platelet-derived growth factor. *J Biol Chem* 2001; 276: 31349-56.
  53. *Aharonovitz O, Zaum H, Balla T, York J, Orłowski J, Grinstein S.* Intracellular pH regulation by NHE requires phosphatidylinositol 4,5 bisphosphate. *J Cell Biol* 2000; 150: 213-24.
  54. *Pang T, Su X, Wakabayashi S, Shigekawa M.* Calcineurin homologous protein as an essential cofactor for NHE. *J Biol Chem* 2001; 276: 17367-72.
  55. *Rohatgi R, Nollau P, Ho H, Kirschner M, Mayer B.* Nck and phosphatidylinositol 3.4 bisphosphate synergistically activate actin polymerization through the N-WASP Arp2/3 pathway. *J Biol Chem* 2001; 276: 26448-52.
  56. *Lehoux S, Abe J, Florian J, Berk B.* 14-3-3 binding to NHE isoform 1 is associated with serum-dependent activation of NHE1. *J Biol Chem* 2001; 276: 15794-800.
  57. *Silva N, Haworth R, Singh D, Fliegel L.* The carbonyl-terminal region of NHE1 interacts with mammalian heat shock protein. *Biochemistry* 1995; 34: 10412-20.
  58. *Li X, Alvarez B, Casey J, Reithmeier R, Fliegel L.* Carbonic anhydrase II binds to and enhances the activity of NHE1. *J Biol Chem* 2002; 277: 36085-91.
  59. *Coupage-Gerard B, Bookstein C, Duncan P, et al.* Biosynthesis and cell surface delivery of NHE1 isoform in A6 cells. *Am J Physiol Cell Physiol* 1996; 271: C2951-C9.
  60. *Grinstein S, Woodside M, Waddell T, et al.* Focal localization of NHE1 isoform: effects on intracellular pH. *EMBO J* 1993; 12: 5209-18.
  61. *Baumgartner M, Patel H, Barber D.* NHE1 as plasma membrane scaffold in the assembly of signaling complexes. *Am J Physiol Cell Physiol* 2004; 287: C844-C50.
  62. *Cingolani H, Perez N, Aiello E, Camilion de Hurtado M.* Intracellular signaling following myocardial stretch: an autocrine/paracrine loop. *Reg Pept* 2005; 128: 211-20.
  63. *Allen D, Xiao X.* Role of cardiac  $\text{Na}^+/\text{H}^+$  exchanger during ischemia and reperfusion. *Cardiovasc Res* 2003; 57: 934-41.
  64. *Stagg M, Terracciano C.* Less  $\text{Na}^+/\text{H}^+$  exchanger to treat heart failure: a simple solution for a complex problem. *Cardiovasc Res* 2005; 65: 10-2.
  65. *Bobulescu I, DiSole F, Moe O.*  $\text{Na}^+/\text{H}^+$  Exchangers: Physiology and link to hypertension and organ ischemia. *Curr Opin Nephrol Hypertens* 2005; 14: 485-94.
  66. *Kuro-O M, Hanaoka K, Hiroi Y, et al.* Salt-sensitive hypertension in transgenic mice overexpressing  $\text{Na}^+$  proton exchanger. *Circ Res* 1995; 76: 148-53.
  67. *Orlov S, Adragna N, Adarichev V, Hamet P.* Genetic and biochemical determinants of abnormal monovalent ion transport in primary hypertension. *Am J Physiol Cell Physiol* 1999; 276: C511-36.
  68. *Lifton R, Hunt S, Williams R, et al.* Exclusion of the  $\text{Na}^+/\text{H}^+$  antiporter as a candidate gene in human essential hypertension. *Hypertension* 1991; 17: 8-14.
  69. *Iwamoto T, Kita S, Zhang J, et al.* Salt-sensitive hypertension is triggered by  $\text{Ca}^{2+}$  entry via  $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$  exchanger type-1 in vascular smooth muscle. *Nat Med* 2004; 10: 1193-9.