

Received: 2004.02.02

Accepted: 2004.05.28

Published: 2004.06.18

Pozagenomowe oddziaływania aldosteronu na procesy metaboliczne komórek

Nongenomic action of aldosterone on cellular metabolism

Barbara Wojczuk, Jadwiga Gniot-Szulżycka

Zakład Biochemii, Instytut Biologii Ogólnej i Molekularnej, Wydział Biologii i Nauk o Ziemi, Uniwersytet Mikołaja Kopernika w Toruniu

Streszczenie

Oprócz ogólnie znanego genomowego działania aldosteronu (po 1–2 godzinach) hormon ten według ostatnio zgromadzonych danych wywołuje również szybkie niegenomowe działanie ujawniające się po 1–2 minutach. Niegenomowe oddziaływania aldosteronu realizowane są z udziałem receptorowych białek błonowych, które po związaniu aldosteronu, indukują syntezę wtórnych przekaźników, takich jak cAMP, IP₃, DAG oraz wpływają na zmiany stężenia Ca²⁺ w cytosolu komórki. Oddziaływania niegenomowe wpływają również na czynność kanałów jonowych i wymiennicy jonowych, a także współuczestniczą w pewnym stopniu w regulacji jego oddziaływania na genom.

Słowa kluczowe:

aldosteron • oddziaływania pozagenomowe aldosteronu • białkowe "receptory" błonowe

Summary

In addition to the well-known genomic action of aldosterone, resulting in delayed effect (1–2 h), a very rapid nongenomic effect (1–2 min) of aldosterone has been recognized recently. The nongenomic action pathway of aldosterone involves: signal perception by protein membrane receptors, induction of the synthesis of messenger molecules such as cAMP, IP₃, and DAG, and a change of Ca²⁺ concentration in the cell cytosol. The target of these rapid responses are also ion channels and exchangers. The nongenomic mechanisms of aldosterone action cooperate with its genomic action in some instances.

Key words:

aldosterone • nongenomic actions of aldosterone • protein membrane 'receptors'

Full-text PDF:

http://www.phmd.pl/pub/phmd/vol_58/5640.pdf

Word count:

2072

Tables:

2

Figures:

2

References:

60

Adres autorów:

prof.dr hab. Jadwiga Gniot-Szulżycka i dr Barbara Wojczuk, Uniwersytet M. Kopernika, Instytut Biologii Ogólnej i Molekularnej, Zakład Biochemii, ul. J. Gagarina 7, 87-100 Toruń, e-mail: jgsz@biol.uni.torun.pl; wojczuk@biol.uni.torun.pl

Wykaz skrótów:

cAMP – cykliczny 3', 5'-adenozynomonofosforan; **CCCD** – komórki kory kanalików zbiorczych (cortical collecting duct cells); **DAG** – diacyloglicerol; **EDTA** – kwas etylenodwuaminoczeroctowy; **EIPA** – etyloizopentenylo-amyloid; **HML** – ludzkie leukocyty mononuklearne (human mononuclear leukocytes); **MDCK** – komórki nerek psa (Madin-Darby canine kidney cells); **PAEC** – komórki endotelialne świńskiej aorty (porcine aortic endothelial cells); **SDS** – siarczan dodecyłu sodu; **SMC** – komórki mięśni szkieletowych (skeletal muscle cells); **VSMC** – komórki naczyń mięśni gładkich (vascular smooth muscle cells)



WSTĘP

Aldosteron, podobnie jak inne hormony steroidowe, uczestniczy w regulacji procesów transkrypcji genów zachodzącej z udziałem czynników transkrypcyjnych, którymi są cytosolowe bądź jądrowe receptory hormonów steroidowych [6,17,32,36,43,60] (ryc. 1).

Sekwencja wydarzeń prowadząca do aktywacji genomu przez hormony steroidowe jest w uproszczeniu następująca: wolny hormon steroidowy w cytosolu komórki łączy się z domeną receptora wiążącą ligand (LBD-ligand binding domain), ulega dimeryzacji i z udziałem białek szoku termicznego, w tym Hsp 90, zostaje przetransportowany do jądra komórkowego. Dimeryczne formy kompleksu hormon-receptor aktywują promotory genów z elementami MRE (mineralocorticoid responsive elements), którymi są określone sekwencje nukleotydowe; wynikiem jest uczynienie promotora i ekspresja mRNA, a następnie biosynteza określonych białek [28,45].

Czas od chwili zadziałania hormonu do uzyskania odpowiedzi biologicznej jest długi (latencja) i wynosi 2–8 godzin. Inhibitory transkrypcji i translacji hamują lub znoszą całkowicie efekty genomowego oddziaływania aldosteronu i innych hormonów steroidowych [4,5,44].

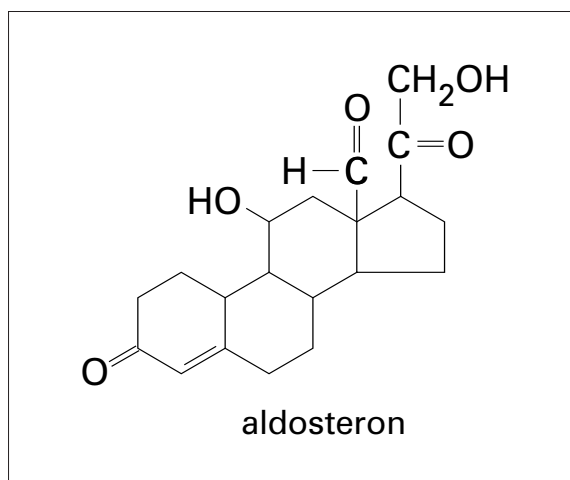
Wewnątrzkomórkowy receptor aldosteronu sklonowali w 1987 roku Arriza i współpracownicy [2].

Badania nad genomowym mechanizmem działania steroidów, w tym również aldosteronu, prowadzone przez ostatnie 30–40 lat pozostawiły w cieniu wcześniejsze obserwacje, które wskazywały na pozagenomowe mechanizmy oddziaływania hormonów steroidowych [18,21,29]. Niektóre efekty wywołane przez aldosteron zachodzą już po kilku minutach od podania hormonu i wystąpienie ich nie jest hamowane przez inhibitory transkrypcji i translacji, w związku z tym nie mogą być uznane za genomowe [3,15,24,38,54,58].

W niniejszym artykule zostaną przedstawione wyniki badań dokumentujące pozagenomowe działanie aldosteronu na niektóre procesy metaboliczne zachodzące z udziałem błonowych białek receptorowych oraz wtórnych przekaźników [10,18,19,27,29,30,47,51,53,56,58].

PIERWSZE DONIESIENIA O POZAGENOMOWYM DZIAŁANIU ALDOSTERONU

Pierwsze obserwacje wskazujące na pozagenomowe działanie aldosteronu dokonane zostały przez Kleina i Henka w 1963 roku [18]. Autorzy ci stwierdzili, iż po dożylnym wprowadzeniu hormonu następował wzrost obwodowego oporu naczyniowego i ciśnienia krwi oraz spadek pojemności minutowej serca. Klein i Henk jako pierwsi zasugerowali możliwość pozagenomowego mechanizmu działania aldosteronu; wskazywał na to krótki okres czasu, jaki upływał od podania hormonu do ujawnienia efektów fizjologicznych. Prawie jednocześnie z Kleinem i Henkiem, Spach i Streeten stwierdzili, iż aldosteron wpływa *in vitro* na zmiany stężenia Na^+ w erytrocytach psa [18]. Brak jąder komórkowych w erytrocytach wyklucza działanie aldosteronu poprzez genom.



Ryc. 1. Wzór strukturalny aldosteronu

Od tych pierwszych doniesień minęło ponad 20 lat zanim ponownie zwrócono uwagę na możliwość pozagenomowego działania aldosteronu [1,33,35,46,48]. Po raz kolejny okazało się, że efekty wywołane przez ten hormon, głównie regulacja stężenia jonów Na^+ , K^+ , Ca^{2+} i pH w komórce, zachodzą szybko, tzn. po 15–20 minutach i nie są hamowane przez inhibitory transkrypcji i translacji, a więc są wywołane przez mechanizmy pozagenomowe.

DOWODY POŚREDNIE NA POZAGENOMOWE DZIAŁANIE ALDOSTERONU

Jednym z najważniejszych kryteriów pozwalających odróżnić pozagenomowe i genomowe działanie hormonu jest czas upływający od podania hormonu do ujawnienia się efektów. W przypadku działania poprzez genom czas ten waha się w granicach od godziny do kilku a nawet kilkunastu godzin. Znane są jednak przypadki działania genomowego ujawniające się po krótkim czasie np. dla niektórych mineralokortykoidów – 30 min [7] czy 7,5 min dla glukokortykoidów [25]. Efekty działania pozagenomowego ujawniają się już po bardzo krótkim czasie rzędu kilku sekund do kilku minut, niemniej jednak nie można wykluczyć, iż efekt działania hormonu, który ujawnia się po dłuższym czasie jest również niegenomowy. W celu określenia czy dany efekt jest genomowy badano wrażliwość na inhibitory transkrypcji (np. aktynomycynę D) i translacji (np. cykloheksymid) [47,51], a także czy proces ten może zachodzić w komórkach pozbawionych jąder komórkowych (erytrocyty psa) [18].

Poza tym badania nad powinowactwem aldosteronu do wewnątrzkomórkowych receptorów i błonowych miejsc wiążących ten hormon wykazały, iż powinowactwo aldosteronu do domniemanego receptora błonowego ($K_d = 0,1 \text{ nM}$) jest 14-krotnie wyższe niż do receptora wewnątrzkomórkowego [50,51]. „Receptor” błonowy i wewnątrzkomórkowy różnią się także specyficznością wiązania. W przypadku receptorów błonowych kortyzol był wiązany tylko przy bardzo dużych stężeniach ($1 \mu\text{mol/L}$), natomiast receptory wewnątrzkomórkowe wiążą aldosteron i kortyzol w stosunku 1:1 przy stężeniach rzędu 1–1,4 nmola/L, tzn. wykazują małą swoistość.

Tabela 1. Porównanie danych o genomowym i pozagenomowym działaniu aldosteronu – dowody pośrednie

	Mechanizm działania		Piśmiennictwo
	Pozagenomowy poprzez receptor błonowy i białka kanałów jonowych (?)	Genomowy poprzez receptor wewnątrzkomórkowy	
Ujawnienie się efektów działania	Odpowiedź szybka, efekty działania hormonu zauważalne po 1–2 min	Odpowiedź późna, efekty działania hormonu po 1–2 godz.	[7,25,47]
Wrażliwość na inhibitory transkrypcji (aktynomycyna D) i translacji (cykloheksymid)	brak wrażliwości	wrażliwe – hamowane	[47,51]
Miejsce działania	kompleks hormonu z błonowym białkiem receptorowym nie wnika do komórki, efekt działania ujawnia się w komórkach z udziałem wtórnych przekaźników	hormon wnika do komórki i wiąże się z receptorem cytosolowym tworząc kompleks hormon-receptor efekt działania poprzez aktywację genomu	[32,58]
Stała wiązania aldosteronu K _d	0,1 nM	1,4 nM	[cyt. za 18]
Swoistość wiązania	duża swoistość wiązania: aldosteron – 0,1 nM; kortyzol – 1 μM; kanrenon i spironolakton (klasyczni antagoniści receptorów wewnątrzkomórkowych) są nieefektywne w blokowaniu receptorów błonowych, nie hamują działania niegenomowego aldosteronu	mała swoistość wiązania: aldosteron i kortyzol wiązane w stosunku 1:1 przy stężeniu 1–1,4 nM kanrenon i spironolakton efektywnie hamują oddziaływanie aldosteronu na genom	[10,50,51]

Tabela 2. Wpływ aldosteronu na zmiany stężenia jonów Na⁺, K⁺, Ca²⁺ i H⁺ w komórkach z różnych typów tkanek

Rodzaj komórek	Stężenie aldosteronu [nM]	Czas do wystąpienia efektu [min]	Efekt	Droga genomowa G, droga niegenomowa NG	Piśmiennictwo
HML, ludzkie leukocyty mononuklearne	0,1	2	wzrost aktywności antyportera Na ⁺ /H ⁺	NG	[46,48,49,51]
		60	wzrost stężenia Na ⁺ , K ⁺ , Ca ²⁺ , wzrost objętości komórki	G	
VSMC, komórki naczyń mięśni gładkich	1	5	wzrost stężenia Ca ²⁺	NG	[10,55,57]
	0,1–0,5	4	wzrost aktywności antyportera Na ⁺ /H ⁺	NG	
MDCK, komórki nerek psa	10	2–4	wzrost aktywności antyportera Na ⁺ /H ⁺	NG niewykluczona droga G	[22,23,24,35,41]
	0,1	2	wzrost stężenia Ca ²⁺ w obrębie porów jądrowych	NG niewykluczona droga G	
	10	5	wzrost stężenia Na ⁺	NG	
SMC, komórki mięśni szkieletowych	10–100	3	wzrost stężenia Ca ²⁺	NG	[cyt. za 29]
CCCD, komórki kory kanalików zbiorczych	1	5	wzrost stężenia Ca ²⁺	NG	[26]
Skrawki arterii płodowych i dorosłego człowieka			wzrost pH i aktywacja antyportera Na ⁺ /H ⁺	NG	[29]
Komórki nerek człowieka	10–100	1	wzrost stężenia Ca ²⁺	NG	[27]

Klasyczny antagonist receptorów wewnątrzkomórkowych – kanrenon – jest nieefektywny w blokowaniu receptorów błonowych [10,50,51].

W tabeli 1 zestawiono dane dotyczące różnic w genomowym i niegenomowym oddziaływaniu aldosteronu.

W tabeli 2 zestawiono dane literaturowe o zmianach stężenia jonów Na⁺, K⁺, Ca²⁺ i H⁺ w komórkach z różnych typów tkanek po potraktowaniu określonymi stężeniami aldosteronu. Fizjologiczne stężenie aldosteronu wynosi 0,1 nmola/L.

BIAŁKA BŁONOWE WIĄŻĄCE ALDOSTERON

Najwcześniejsze doniesienia o wiązaniu aldosteronu do błon plazmatycznych pochodzą z badań Forte [20] oraz Ożegowicia i współpracowników [37]. Białka błon plazmatycznych nerek szczura wiązały znakowany trytem aldosteron ([³H] aldosteron) ze stałą powinowactwa K_d równą 100 nmoli/L [20] lub 13 nmoli/L dla nienaruszonych błon i 3 nmole/L dla błon solubilizowanych SDS-em [37].

Wehling i współpracownicy w latach dziewięćdziesiątych ub.w. stwierdzili obecność białek wiążących aldosteron



w błonach plazmatycznych ludzkich leukocytów [50,52] oraz w błonach mikrosomalnych nerek [9] i wątroby świni [31]. Stała wiązania dla radioliganda, a także dla nieznakowanego aldosteronu, wynosiła 0,1 nmola/L [50]. Określono również niektóre parametry kinetyczne wiązania aldosteronu przez białka błonowe [31]. Wiązanie [³H] aldosteronu było proporcjonalne do ilości dodawanego białka błonowego; optymalne wiązanie zachodziło w pH 7,2, w temperaturze 25–30°C; kanrenon w stężeniu 1000-krotnie wyższym (0,1 μmola/L) był wiązany tylko w 13%. Poza tym białka błonowe wiążące aldosteron wykazywały wrażliwość na trypsynę; 30-minutowa preinkubacja z trypsyną (50 μg/ml) powodowała 70% spadek wiązania.

Podjęto również próby oczyszczenia i wyodrębnienia białek wiążących aldosteron. Próba solubilizacji błonowego białka receptorowego z użyciem wysokiego stężenia soli (1 M NaCl, 1 mM EDTA) nie dała pozytywnego efektu, co wskazuje, iż jest ono integralnym białkiem błonowym [16]. Zastosowanie detergentów do ekstrakcji umożliwiło częściową solubilizację białka receptorowego. Spośród 16 użytych detergentów n-oktyloglukozyd (50 nM) powodował 25% solubilizację kompleksu białka błonowego z radioligandem; inne detergenty (np. digitonina, Lubrol, Triton X-100, Triton X-114, Chaps, cholan sodu) nie uwalniały białka ze struktury błon [31]. W 1992 roku grupa Wehlinga wyznaczyła masę cząsteczkową białka receptorowego aldosteronu z błon ludzkich leukocytów [16,53]. Stosując elektroforezę żelową w SDS określono masę cząsteczkową białka receptorowego na 50 kDa. Białko to wiązało aldosteron, lecz nie wiązało kortyzonu.

Pojemność wiązania aldosteronu przez białka błonowe pochodzące z różnych źródeł jest odmienna i tak np. 1 mg białka błon mikrosomalnych wątroby świni wiąże 700 fmoli aldosteronu, a 1 mg białka błon plazmatycznych ludzkich leukocytów tylko 8 fmoli aldosteronu [31].

RECEPTORY BŁONOWE ALDOSTERONU – SYNTeza WtórNYch PRZEKAŹNIKÓW

Zakładając, że aldosteron może działać poprzez receptory błonowe stymulujące proces syntezy wtórnych przekaźników, badano zmiany stężenia inozytolo 1, 4, 5-trifosforanu (IP₃), diacyloglicerolu (DAG), jonów Ca²⁺ oraz cyklicznego AMP (cAMP) w różnych typach komórek po podaniu aldosteronu, hydrokortyzonu i kanrenonu. Badania prowadzono na ludzkich leukocytach (HML), komórkach naczyń mięśni gładkich szczura (VSMC) oraz komórkach endotelialnych świńskiej aorty (PAEC) [8,10,11]. W badaniach stosowano aldosteron w stężeniu 1 nmol/L lub 10 nmoli/L, hydrokortyzon w stężeniu 1 μmol/L oraz kanrenon w stężeniu 0,1 μmola/L – 10 μmoli/L. Zarówno w przypadku użycia ludzkich leukocytów jak i komórek naczyń mięśni gładkich, aldosteron znacznie stymulował syntezę IP₃ (odpowiednio 240 i 167%) i DAG (255%). Stwierdzono poza tym, że hydrokortyzon nie wywoływał takiego efektu nawet w stężeniu 1000-krotnie wyższym, co wskazuje na swoistość oddziaływania aldosteronu. Klasyczny antagonist receptorów cytosolowych dla mineralokortykoidów – kanrenon – również nie blokował działania aldosteronu.

Ponieważ IP₃ powoduje uwalnianie jonów Ca²⁺ z magazynów wewnątrzkomórkowych poprzez receptory IP₃ umiej-

scowione głównie w błonach retikulum endoplazmatycznego, badano również wpływ aldosteronu na uwalnianie tego jonu i podwyższenie jego stężenia w cytosolu [13,22,26,39,40,49,55,57]. Po 2–3 minutach od podania aldosteronu wzrasta stężenie Ca²⁺ do około 120% w HML [49] oraz do 140% w VSMC [57]. Wykazano, iż w VSMC Ca²⁺ uwalniany jest z retikulum endoplazmatycznego, natomiast w PAEC pochodzi ze środowiska zewnętrznego komórki poprzez uczynienie kanałów wapniowych [55]. Efekt ten hamowany jest przez tapsigarginę – bloker kanałów wapniowych [40,57]. Spironolakton – bloker receptorów wewnątrzkomórkowych mineralokortykoidów oraz aktynomycyna D – inhibitor procesu transkrypcji nie wpływają na zmiany komórkowego metabolizmu Ca²⁺ wywołane podaniem aldosteronu. Glukokortykoidy (np. deksametazon) podwyższają stężenie Ca²⁺ tylko w dużych stężeniach rzędu 1 μmol/L; w stężeniach małych (1 nmol/L, 10 nmoli/L) nie wpływają na poziom wewnątrzkomórkowego Ca²⁺.

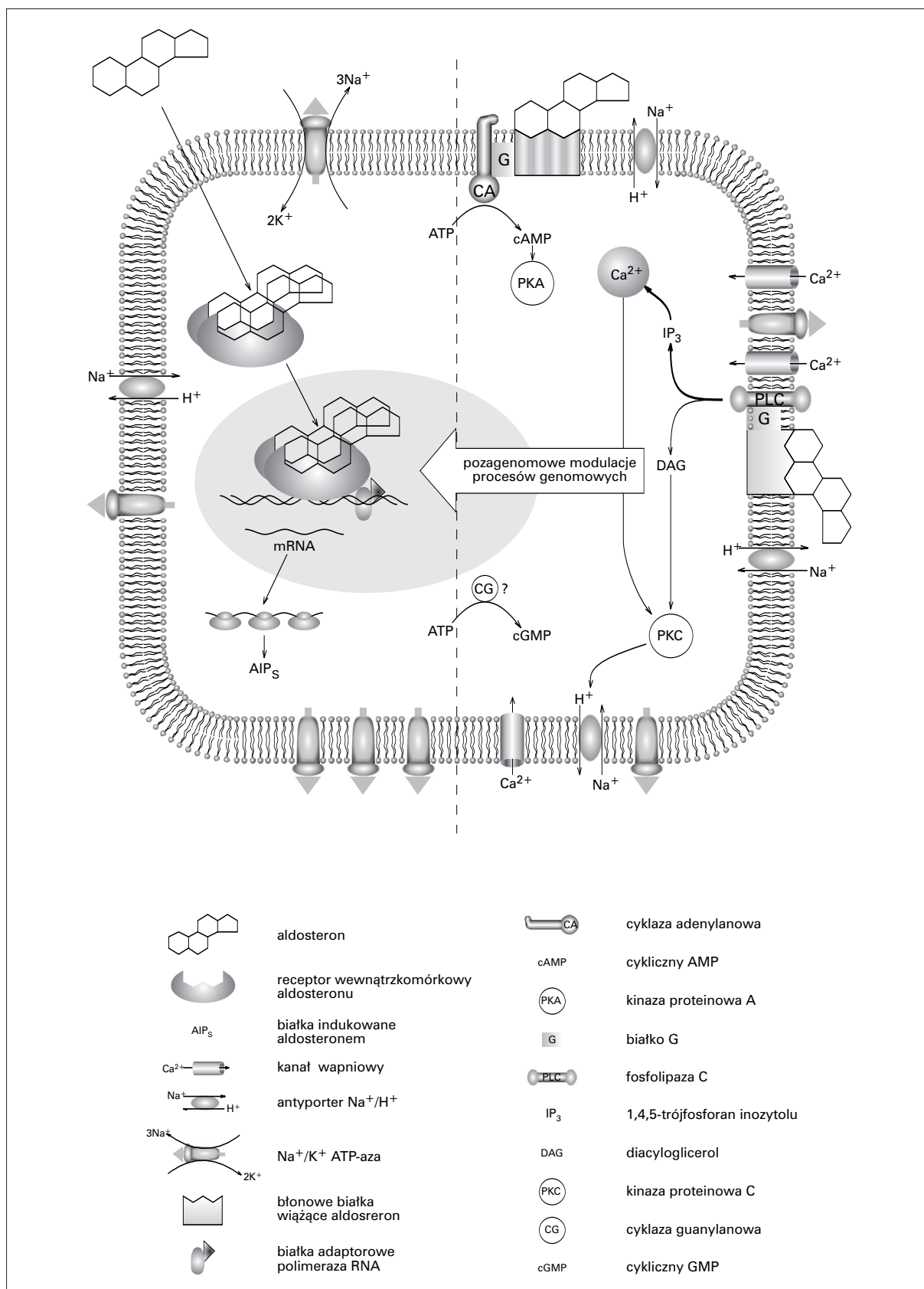
Aldosteron stymuluje także wzrost poziomu cyklicznego AMP (cAMP) [14,42]. Po jednodominutowej inkubacji komórek naczyń mięśni gładkich świni (VSMC) w roztworze zawierającym aldosteron w stężeniu 10 nmoli/L nastąpił wzrost wewnątrzkomórkowego cAMP do 234% [14]. Hydrokortyzon i 17β estradiol podwyższały poziom cAMP odpowiednio do 139 i 173%, lecz efekt ten ujawniał się w stężeniach 1000-krotnie wyższych wymienionych związków (10 μmoli/L). Aktynomycyna D i cykloheksymid nie hamowały wzrostu stężenia cAMP wywołanego dodaniem aldosteronu. Dane te świadczą o swoistym oddziaływaniu aldosteronu z receptorami błonowymi badanych komórek.

Według Wehlinga i współpracowników w pozagenomowym układzie przekazu sygnału z udziałem aldosteronu poprzez receptory błonowe i wtórne przekaźniki pośredniczą również białka G [56,57].

WSPÓLZALEŻNOŚĆ MIĘDZY GENOMOWYM I POZAGENOMOWYM DZIAŁANIEM ALDOSTERONU

Z przedstawionych danych wynika, iż oprócz klasycznego, genomowego mechanizmu działania mineralokortykoidów [4,5,44] istnieje także druga, pozagenomowa droga oddziaływań [12,15,18,19,24,30,38,58]. Integuracyjny dwustopniowy model działania aldosteronu przedstawiono na ryc. 2.

Zakłada on, iż steroidy działają za pośrednictwem obu tych mechanizmów jednocześnie [12,18,30,38,51,58,59]. I tak np. szybka odpowiedź komórki na aldosteron (patrz tabela 2) prowadzi do napływu jonów Na⁺ do komórki poprzez antyporter Na⁺/H⁺, co prowadzi do alkalizacji środowiska wewnątrzkomórkowego, a także aktywacji Na⁺K⁺-ATP-azy – jest to pierwszy etap działania. Lokalna alkalizacja przybłonowej strefy w sąsiedztwie antyportera Na⁺/H⁺ przyczynia się do uruchomienia kaskady kinaz oddziałujących na genom, a także syntezy *de novo* białek AIPs (aldosterone induced proteins) klasyczną drogą genomową, co stanowi drugi etap działania. Mechanizm niegenomowego działania aldosteronu powoduje wzmocnienie odpowiedzi powstałej na drodze genomowej. Genomowy mechanizm w zasadzie dostarcza komór-



Ryc. 2. Dwustopniowy model działania aldosteronu. Schemat przedstawia pozagenomowe (szybkie) mechanizmy działania aldosteronu (strona prawa) oraz genomowe (opóźnione) oddziaływania poprzez receptory wewnątrzkomórkowe (strona lewa)



ce odpowiednich zestawów białek do sprawnej regulacji homeostazy mineralnej, zachodzącej z udziałem receptorów błonowych współdziałających z enzymami uczestniczącymi w syntezie wtórnych przekazywaczy; te ostatnie mogą również stymulować (nieomawiane w tym artykule) procesy ekspresji genów [34].

ZAKOŃCZENIE

Istnieje potrzeba lepszego poznania i charakterystyki molekularnej błonowych białek receptorowych aldosteronu. Z przedstawionych w artykule dostępnych danych literaturowych wynika, iż białkami tymi mogą być swoiste receptory błonowe aldosteronu sprzężone z białkami G, odpowiedzialne za przekaz sygnału pozakomórkowego poprzez syntezę wtórnych przekazywaczy (cAMP, IP₃, DAG, Ca²⁺, NO?). Wzrost stężenia wymienionych wtórnych przekazywaczy wskazuje na istnienie wielu typów receptorów, na razie brak danych o ich tkankowym zróżnicowaniu.

Osobne zagadnienie to możliwość modulacji aktywności kanałów jonowych przez aldosteron i wpływ na zmiany zewnątrzkomórkowego i wewnątrzkomórkowego stężenia jonów Ca²⁺, K⁺, Na⁺ i H⁺. Przykładowo modelowe badania Gekle i współpracowników [22,23,40] wykazały, że środowisko wewnętrzne komórek epitelialnych nerek w warunkach kontrolnych ma wartość pH 7,15±0,05. Aldosteron w obecności jonów Ca²⁺ w stężeniu 10⁻⁸ mola/L wywołuje

wzrost pH do 7,3±0,05. Działanie aldosteronu zależne było od obecności jonów wapnia w środowisku zewnętrznym i wynikało z uaktywnienia antyportera Na⁺/H⁺; inhibitor antyportera Na⁺/H⁺, etylo-izopentenylo-amilorid (EIPA) w stężeniu 10⁻⁵ mola/L znosił działanie aldosteronu. Na stężenie jonów H⁺ środowiska komórki wpływa również zewnątrzkomórkowe stężenie jonów Zn²⁺, aktywność pompy Na⁺/K⁺, kanałów K⁺, a także pasywny przepływ protonów, który jest zależny od potencjału transmembranowego.

Wielorakość oddziaływań aldosteronu na procesy metaboliczne oraz potencjalne współoddziaływanie dróg przekazywaczy niegenomowych i genomowych wydaje się wskazywać na złożoną rolę działania aldosteronu w procesach ustrojowej homeostazy jonowej.

Dodatkowe możliwości oddziaływania aldosteronu na gospodarkę jonową tkanek wynikają również ze stwierdzonej możliwości syntezy tego steroidu w komórkach serca i układu krwionośnego (cyt. za [6]).

Głębsze poznanie mechanizmów modulacji procesów metabolicznych przez niegenomowe oddziaływania aldosteronu pozwoli być może w przyszłości na zrozumienie złożonych mechanizmów molekularnych leżących u podstaw wielu schorzeń, takich jak nadciśnienie tętnicze, choroby serca i miażdżyca.

PIŚMIENNICTWO

- [1] Armanini D., Strasser T., Weber P.C.: Characterization of aldosterone binding sites in circulating mononuclear leukocytes. *Am. J. Physiol.*, 1985; 248: E388-E390
- [2] Arriza L.A., Weinberger C., Cerelli G., Glaser T.M., Handelin B.L., Housmann D.E., Evans R.M.: Cloning of human mineralocorticoid receptor complementary DNA: structural and functional kinship with glucocorticoid receptor. *Science*, 1987; 23: 268-275
- [3] Baulieu E.E., Robel P.: Non-genomic mechanisms of action of steroid hormones. In: *Non-reproductive action of sex steroids*. Wiley, Chichester (Ciba Found. Symp.191), 1995; 24-42
- [4] Beato M.: Induction of transcription by steroid hormones. *Biochim. Biophys. Acta*, 1987; 910: 95-102
- [5] Beato M.: Gene regulation by steroid hormones. *Cell*, 1989; 56: 335-344
- [6] Booth R.E., Johnson J.P., Stockand J.D.: Aldosterone. *Adv. Physiol. Educ.*, 2002; 26: 8-20
- [7] Cato A.C.B., Weinmann J.: Mineralocorticoid regulation of transcription of transfected mouse mammary tumor virus DNA in cultured kidney cells. *J. Cell Biol.*, 1988; 106: 2119-2125
- [8] Christ M., Eisen C., Aktas J., Theisen K., Wehling M.: The inositol-1, 4, 5-triphosphate system is involved in rapid effects of aldosterone in human mononuclear leukocytes. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 1993; 7: 1452-1457
- [9] Christ M., Sippel K., Eisen C., Wehling M.: Non-classical receptors for aldosterone in plasma membranes from pig kidneys. *Mol. Cell. Endocrinol.*, 1994; 99: R31-R34
- [10] Christ M., Douwes K., Eisen C., Bechtner G., Theisen K., Wehling M.: Rapid effects of aldosterone on sodium transport in vascular smooth muscle cells. *Hypertension*, 1995; 25: 117-123
- [11] Christ M., Meyer C., Sippel K., Wehling M.: Rapid aldosterone signaling in vascular smooth muscle cells: involvement of phospholipase C, diacylglycerol and protein kinase C. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 1995; 213: 123-129
- [12] Christ M., Wehling M.: Cardiovascular steroid actions: swift swallows or sluggish snails? *Cardiovasc. Res.*, 1998; 40: 34-44
- [13] Christ M., Wehling M.: Rapid actions of aldosterone: lymphocytes, vascular smooth muscle and endothelial cells. *Steroids*, 1999; 64: 35-41
- [14] Christ M., Günther A., Heck M., Schmidt B.M.W., Falkenstein E., Wehling M.: Aldosterone, not estradiol, is the physiological agonist for rapid increase in cAMP in vascular smooth muscle cells. *Circulation*, 1999; 99: 1485-1491
- [15] Christ M., Haseroth K., Falkenstein E., Wehling M.: Nongenomic steroid actions – fact or fantasy? *Vitam. Horm.*, 1999; 57: 325-373
- [16] Eisen C., Meyer C., Christ M., Theisen K., Wehling M.: Novel membrane receptors for aldosterone in human lymphocytes: a 50 kDa protein on SDS-PAGE. *Cell Mol. Biol.*, 1994; 40: 351-358
- [17] Evans R.M.: The steroid and thyroid hormone receptor superfamily. *Science*, 1988; 240: 889-895
- [18] Falkenstein E., Christ M., Feuring M., Wehling M.: Specific nongenomic actions of aldosterone. *Kidney Int.*, 2000; 57: 1390-1394
- [19] Falkenstein E., Wehling M.: Nongenomically initiated steroid actions. *Eur. J. Invest.*, 2000; 30: 51-54
- [20] Forte L.R.: Effect of mineralocorticoid agonists and antagonists binding of ³H-aldosterone to adrenalectomized rat kidney plasma membranes. *Life Sci.*, 1972; 11: 461-473
- [21] Ganong W.E., Mulrow P.J.: Rate of change in sodium and potassium excretion after injection of aldosterone into the aorta and renal artery of the dog. *Am. J. Physiol.*, 1958; 337-341
- [22] Gekle M., Golenhofen N., Oberleithner H., Silbernagl S.: Rapid activation of Na⁺/H⁺ exchange by aldosterone in renal epithelial cells requires Ca²⁺ and stimulation of a plasma membrane proton conductance. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1996; 93: 10500-10504
- [23] Gekle M., Silbernagl S., Oberleithner H.: The mineralocorticoid aldosterone activates a proton conductance in cultured kidney cells. *Am. J. Physiol.*, 1977; 273: C1673-C1678
- [24] Gekle M., Silbernagl S., Wünsch S.: Non-genomic action of mineralocorticoid aldosterone on cytosolic sodium in cultured kidney cells. *J. Physiol.*, 1998; 511.1: 225-265
- [25] Groner B., Hynes N.E., Rahmsdorf J., Ponta H.: Transcription initiation of transfected mouse mammary tumor virus LTR DNA is regulated by glucocorticoid hormones. *Nucleic Acid Res.*, 1983; 11: 4713-4725
- [26] Harvey B.J., Higgins M.: Nongenomic effects of aldosterone on Ca²⁺ in M-1 cortical collecting cells. *Kidney Int.*, 2000; 57: 1395-1403

- [27] Köppel H., Christ M., Yard B.A., Bär P.C., van der Woude F.J., Wehling M.: Nongenomic effects of aldosterone on human renal cells. *J. Clin. Endocrinol.*, 2003; 88: 1297-1302
- [28] Lauber A.H., Sandhu N.P., Schuchard M., Subramaniam M., Spelsberg T.C.: Nuclear matrix acceptor binding sites for steroid hormone receptors: a candidate nuclear matrix acceptor protein. *Int. Rev. Cytol.*, 1995; 162B: 337-376
- [29] Lösel R., Fuering M., Wehling M.: Non-genomic aldosterone action: from the cell membrane to human physiology. *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.*, 2003; 83: 167-171
- [30] Lösel R., Wehling M.: Nongenomic action of steroid hormones. *Mol. Cell Biol.*, 2003; 4: 46-56
- [31] Meyer C., Christ M., Wehling M.: Characterization and solubilization of novel aldosterone binding proteins in porcine liver microsomes. *Eur. J. Biochem.*, 1995; 29: 736-740
- [32] Miesfeld R.L.: The structure and function of steroid receptor proteins. *Crit. Rev. Biochem. Mol. Biol.*, 1989; 24: 101-117
- [33] Moura A.M., Worcel M.: Direct action of aldosterone on transmembrane Na⁺ efflux from arterial smooth muscle. *Hypertension*, 1984; 6: 425-430
- [34] Moyer M.L., Borrer K.C., Bona B.J., DeFranco D.B., Nordeen S.K.: Modulation of cell signaling pathways enhance or impair glucocorticoid-induced gene expression without altering the state or receptor phosphorylation. *J. Biol. Chem.*, 1993; 268: 22933-22940
- [35] Oberleithner H., Weight M., Wessstphale H.J., Wang W.: Aldosterone activates Na⁺/H⁺ exchange and raises cytoplasmic pH in target cells of the amphibian kidney. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1986; 84: 1464-1468
- [36] O'Maley B.W.: The steroid receptor superfamily; more excitement predicted. *Mol. Endocrinol.*, 1990; 4: 363-369
- [37] Ožegović B., Dobrović-Jenik D., Milković S.: Solubilization of rat kidney plasma membrane proteins associated with ³H-aldosterone. *Exp. Clin. Endocrinol.*, 1988; 92: 194-198
- [38] Schmidt B.M.W., Christ M., Falkenstein E., Wehling M.: Nongenomic steroid actions: completing the puzzle. Aldosterone as an example. *Exp. Clin. Endocrinol. Diabetes*, 1998; 106: 441-445
- [39] Schmidt B.M.W., Georgens A.C., Martin N., Tillman H.C., Feuring M., Christ M., Wehling M.: Interaction of rapid nongenomic cardiovascular aldosterone effects with the adrenergic system. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 2001; 86: 761-767
- [40] Schneider M., Ulsenheimer A., Christ M., Wehling M.: Nongenomic effects of aldosterone on intracellular calcium in porcine endothelial cells. *Am. J. Physiol.*, 1997; 272: E616-E620
- [41] Schneider S.W., Yano Y., Sumpio B.E., Jena B.P., Geibel J.P., Gekle M., Oberleithner H.: Rapid aldosterone cell volume increase of endothelial cells measured by the atomic force microscope. *Cell Biol. Int.*, 1997; 21: 759-768
- [42] Shearer E.A., Wargent E.T., Ashton N., Balment R.J.: Rapid stimulation of cyclic AMP production by aldosterone in rat inner collecting ducts. *J. Endocrinol.*, 2002; 175: 343-347
- [43] Słomczyńska M.: Receptory hormonów steroidowych – budowa i funkcja. *Post. Biol. Kom.*, 1995; 22: 3-21
- [44] Spelsberg T.C., Rories C., Rejman J.J., Goldberger A., Fink K., Lau C.K., Colvard D.S., Wiseman G.: Steroid action on gene expression: possible roles of regulatory genes and nuclear acceptor sites. *Biol. Reprod.*, 1989; 40: 54-69
- [45] Wahli W., Martinez E.: Superfamily of steroid nuclear receptors: positive and negative regulators of gene expression. *FASEB J.*, 1991; 5: 2243-2249
- [46] Wehling M., Armanini D., Strasser T., Weber P.C.: Effect of aldosterone on sodium and potassium concentrations in human mononuclear leukocytes. *Am. J. Physiol.*, 1987; 252: E505-E508
- [47] Wehling M., Käsmayr J., Theisen K.: Fast effects of aldosterone on electrolytes in human lymphocytes are mediated by the sodium-proton-exchanger of the cell membrane. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 1989; 164: 961-967
- [48] Wehling M., Kuhls S., Armanini D.: Volume regulation of human lymphocytes by aldosterone in isotonic media. *Am. J. Physiol.*, 1989; 257: E170-E174
- [49] Wehling M., Käsmayr J., Theisen K.: Aldosterone influences free intracellular calcium in human mononuclear leukocytes in vitro. *Cell Calcium*, 1990; 11: 565-571
- [50] Wehling M., Christ M., Theisen K.: High affinity aldosterone binding to plasma membrane rich fraction from mononuclear leukocytes: is there a membrane receptor for mineralocorticoid? *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 1991; 181: 1306-1312
- [51] Wehling M., Käsmayr J., Theisen K.: Rapid effects of mineralocorticoid on sodium-proton exchanger: genomic or nongenomic pathway? *Am. J. Physiol.*, 1991; 260: E719-E726
- [52] Wehling M., Christ M., Theisen K.: Membrane receptors for aldosterone: a novel pathway for mineralocorticoid action. *Am. J. Physiol.*, 1992; 263: E974-E979
- [53] Wehling M., Eisen C., Actos J., Christ M., Theisen K.: Photoaffinity labeling of plasma membrane receptors for aldosterone from human mononuclear leukocytes. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 1992; 189: 1424-1428
- [54] Wehling M.: Nongenomic actions of steroid hormones. *Trends Endocrinol. Metab.*, 1994; 5: 347-353
- [55] Wehling M., Ulsenheimer A., Schneider M., Neylon C., Christ M.: Rapid effects of aldosterone on free intracellular calcium in vascular smooth muscle and endothelial cells: subcellular localization of calcium elevations by single cell imaging. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 1994; 204: 475-481
- [56] Wehling M.: Nongenomic aldosterone effects: the cell membrane as a specific target of mineralocorticoid action. *Steroids*, 1995; 60: 153-156
- [57] Wehling M., Neylon C.B., Fullerton M., Bobik A., Funder J.W.: Nongenomic effects of aldosterone on intracellular Ca²⁺ in vascular smooth muscle cells. *Circ. Res.*, 1995; 76: 973-979
- [58] Wehling M.: Specific, nongenomic actions of steroid hormones. *Annu. Rev. Physiol.*, 1997; 59: 365-393
- [59] Wehling M., Spes C.H., Win N., Janson C.P., Schmidt B.M.W., Theisen K., Christ M.: Rapid cardiovascular actions of aldosterone in man. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 1998; 83: 3517-3522
- [60] Yamashita S.: Localization and functions of steroid hormone receptors. *Histol. Histopathol.*, 1998; 13: 255-270

