

ANA MARIA MARQUES ORELLANA

**ADMINISTRAÇÃO INTRAHIPOCAMPAL DE OUABAÍNA ATIVA O NF- κ B
E A SINALIZAÇÃO DA PROTEÍNA WNT EM RATOS**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Farmacologia do Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo, para obtenção do Título de Mestre em Ciências.

Área de Concentração: **Farmacologia**

Orientador: **Prof. Dr. Cristoforo Scavone**

Versão Original

São Paulo
2012

RESUMO

ORELLANA AMM. Administração Intrahipocampal de Ouabaína ativa o NF- κ B e a sinalização da proteína WNT em ratos. [dissertação (Mestrado em Farmacologia)] São Paulo: Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo, 2012.

A enzima Na⁺, K⁺-ATPase (Sódio Potássio Adenosina Trisfosfatase), é uma proteína de membrana altamente conservada em eucariotos, que através da hidrólise de uma molécula de ATP é capaz de gerar um gradiente eletroquímico, fundamental para manter o balanço osmótico das células, o potencial de repouso das membranas e a propriedade excitatória das células musculares e nervosas. Além de seu papel regulatório na homeostasia iônica, desempenha um papel na transdução de sinal e na ativação de transcrição gênica, modulando na presença de ouabaína o crescimento celular, migração e morte celular programada. A Ouabaína (OUA) é um esteróide cardiotônico, produzido no córtex da adrenal e no hipotálamo. Em linhas gerais, a sinalização da Na⁺, K⁺-ATPase promovida pela OUA parece ativar vias associadas à modulação de fatores de transcrição como a via da Src, MAPK, Ca²⁺ e NF- κ B. Evidências indicam que o NF- κ B exerça algum tipo de modulação na via canônica do WNT, no entanto os mecanismos moleculares ainda são desconhecidos. As vias de sinalização celular associadas à proteína WNT desempenham funções importantes durante a embriogênese e na homeostase de tecidos adultos, por estar relacionada ao processo de neurogênese. Assim, o objetivo do presente projeto é verificar se a administração intrahipocampal de ouabaína é capaz de modular a atividade das vias canônicas do NF- κ B e da WNT. Estas vias foram estudadas em um decurso temporal imediato (1 -2 horas) e tardio (10, 24 e 48 horas) utilizando técnicas como Western Blotting, RT-PCR e Ensaio de Retardamento da Mobilidade Eletroforética para NF- κ B (EMSA). Os resultados encontrados mostram que a OUA (10 nM) foi capaz de ativar a via de sinalização NF- κ B, após 1 hora, 10, 24 e 48 horas, seguindo um comportamento oscilatório. A OUA também foi capaz de ativar a via canônica do WNT, sendo que 10 horas após a sua administração ocorreu aumento da fosforilação da proteína GSK-3 β , enquanto que em 24 horas, observamos aumento da translocação nuclear da β -CATENINA. Além disso, pode-se verificar aumento de BDNF ao longo de todo o decurso temporal. Em resumo, 10 nM de OUA é capaz de ativar primeiramente a via do NF- κ B e tardiamente a via canônica do WNT.

Palavras-chave: Ouabaína. WNT. NF- κ B. Neuroinflamação. β -CATENINA.

ABSTRACT

ORELLANA AMM. Intrahippocampal injection of Ouabain activates NF- κ B and WNT signaling pathways in rats. [Master thesis (Pharmacology)]. São Paulo: Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo, 2012.

The enzyme Na⁺,K⁺-ATPase (Sodium Potassium Adenosine Trisfosfatase) is an integral membrane protein, highly conserved in eukaryotes, which through hydrolysis of one ATP molecule establishes the electrochemical gradient across the plasma membrane, which is essential to maintain the osmotic balance of cells, the resting membrane potential and the excitatory property of nerve and muscle cells. Besides its role in ion homeostasis, several recent studies suggest that this pump may also act as a signal transducer and transcription activator involved in cell growth, differentiation and programmed cell death. Ouabain (OUA), the ligand of Na⁺,K⁺-ATPase, is a steroid derivative that is produced by the adrenal cortex and hypothalamus. After OUA binding, the Na⁺,K⁺-ATPase signaling seems to activate pathways such as Src, MAPK, NF- κ B and Ca²⁺. Some evidence indicate a possible crosstalk between the NF- κ B signaling pathway and the canonical WNT pathway, however the molecular mechanisms are still unknown. The canonical WNT play important roles during embryogenesis and in adult tissue homeostasis, as it is related to neurogenesis process. The aim of this project is to verify if the intrahippocampal administration of OUA is able to modulate the activity of the canonical pathways of NF- κ B and WNT. Both pathways were studied after 1 and 2 hours, and after 10, 24 and 48 hours by Western blot, RT-PCR and Electrophoretic mobility shift assays, that were used to determine changes in both canonical pathways. The results show that the OUA (10 nM) was able to activate the NF- κ B signaling pathway after 1, 10, 24 and 48 hours following an oscillatory profile. The OUA was also able to activate the canonical WNT pathway, since after 10 hours there was an increased phosphorylation of GSK-3 β protein, whereas in 24 hours, we observed increased nuclear translocation of β -CATENIN. Moreover, we found increased levels of BDNF throughout the time course. In summary, OUA 10 nM is able to first activate the NF- κ B signaling pathway and later the canonical WNT pathway.

Key words: Ouabain. NF- κ B. WNT. β -CATENIN. Neuroinflammation.

1 INTRODUÇÃO

1.1 Na^+ , K^+ -ATPase

A enzima Na^+ , K^+ -ATPase (Sódio Potássio Adenosina Trifosfatase) é uma proteína de membrana altamente conservada em eucariotos (Gloor, 1997) que estabelece e mantém altas concentrações intracelulares de K^+ e baixas de Na^+ . Através da hidrólise de uma molécula de adenosina trifosfato (ATP), a enzima eletrogênica obtém a energia necessária para transportar 3 íons Na^+ para o meio extracelular e 2 íons K^+ para o meio intracelular. O gradiente eletroquímico gerado é fundamental para manter o equilíbrio osmótico das células, o potencial de repouso das membranas e a propriedade excitatória das células musculares e nervosas (Gloor, 1997; Blanco e Mercer, 1998), além de ser responsável pela geração de energia que mantém ativo os transportadores secundários acoplados ao Na^+ , tais como a translocação de íons (H^+ , Ca^{2+} , Cl^- , PO_4^{3-} e SO_4^{2-}), substratos (glicose e aminoácidos) e neurotransmissores por meio da membrana plasmática (Glynn, 1993; Blanco e Mercer 1998).

1.2 As subunidades

Em 1978, o grupo de Marks e Seeds, realizava estudos sobre a sensibilidade da Na^+ , K^+ -ATPase à presença de inibidores (esteróides cardiotônicos, como por exemplo a Ouabaína), quando observou a existência de curvas de inibição heterogêneas. Baseado nos resultados deste trabalho, eles sugeriram a provável existência de isoenzimas na composição da bomba, dados confirmados em trabalhos posteriores (Marks e Seeds, 1978; Peterson et al., 1978; Sweadner, 1979). O termo isoenzima foi usado pela primeira vez em 1959 por Markert e Moller, para designar proteínas diferentes que catalisavam as mesmas reações bioquímicas (Market e Moller, 1959). Com o advento da biologia molecular, diferentes isoformas foram identificadas na constituição das isoenzimas da Na^+ , K^+ -ATPase.

A Na^+ , K^+ -ATPase é uma proteína heterodimérica e integral de membrana composta por três subunidades: uma subunidade α , uma subunidade β altamente glicosilada e uma subunidade γ (Sweadner, 1979; Lingrel e Kuntzweiler, 1994; Malik et al., 1996; Kaplan, 2002). A subunidade α é responsável pelas propriedades catalíticas e de transporte da enzima, pois contém sítios de ligação para os íons, para os glicosídeos cardiotônico (como a Ouabaína) e para o ATP (Mercer, 1993; Lingrel e Kuntzweiler, 1994; Pressley, 1996). São conhecidas quatro isoformas da subunidade α : α_1 , α_2 , α_3 e α_4 (Shamraj e Lingrel, 1994) e quatro da subunidade β : β_1 , β_2 , β_3 e β_m (Blanco e Mercer, 1998; Geering, 2010). A

subunidade β modula a afinidade da enzima pelos íons, favorecendo sua inserção na membrana, enquanto que a subunidade γ parece modular a afinidade aparente pelos íons e pelo ATP (Chow e Forte, 1995; Blanco e Mercer, 1998; Geering, 2008). De forma geral, a Na^+, K^+ -ATPase possui um perfil tecido específico de expressão. Por exemplo, a subunidade α_1 é expressa em todos os tecidos, incluindo neurônios e células da glia, porém no sistema nervoso central (SNC), os neurônios são os sítios de maior abundância da subunidade α_3 enquanto que as células da glia expressam preferencialmente a α_2 . A combinação $\alpha_1\beta_1$ é encontrada em quase todos os tecidos do corpo, sendo a principal isoenzima do rim. A maioria dos neurônios expressa as subunidades α_3 e β_1 , as células da glia expressam predominantemente α_2 e β_2 (em astrócitos) e β_3 (em oligodendrócitos) (Blanco e Mercer, 1998; Benarroch, 2011). A isoforma α_1 é relativamente resistente à Ouabaína (OUA) e às espécies reativas de oxigênio (EROs), enquanto que as isoformas α_2 e α_3 são sensíveis à OUA e as EROs, em ratos (Karpova et al., 2010). O perfil de expressão das isoformas pode variar mediante desenvolvimento, alterações hormonais e durante processos patológicos (Blanco e Mercer, 1998).

1.3 A enzima Na^+, K^+ -ATPase e a Ouabaína

Alguns estudos sugerem que a enzima Na^+, K^+ -ATPase, além de seu papel regulatório na homeostasia iônica, desempenha um papel na transdução de sinal e na ativação da transcrição gênica (Peng et al. 1996; Kometiani et al., 1998; Tian et al., 2001; Xie e Askari, 2002), modulando na presença de OUA, o crescimento e migração celular e a morte celular programada (Abramowitz et al., 2003; Liu et al., 2004; Barwe et al., 2005).

A OUA é um glicosídeo cardiotônico, extraída da árvore africana *Ouabaio* e da planta *Strophanthus gratus*. Após uma série de estudos mostrarem que a adição exógena de esteróides cardiotônicos às células animais resultava em numerosas respostas fisiológicas e bioquímicas (Aizman et al., 2001; Schoner, 2002; Nesher et al., 2007; Larre e Cereijido, 2010), a OUA foi considerada um hormônio endógeno de mamíferos, produzido no córtex da adrenal e no hipotálamo (Schneider et al., 1998; Kawamura et al., 1999; Komiyama et al., 2001; Schoner, 2002). Níveis elevados de OUA circulantes, ainda na faixa de concentração nanomolar (nM), estão associados a alguns processos patológicos como falência renal crônica, hiperaldosteronismo, falência cardíaca congestiva e pré-eclâmpsia (Blaustein 1993, Hamlyn et al., 1998, Bagrov e Shapiro, 2008), e também associados às condições de crescimento e desenvolvimento, à gestação e à vida neonatal (doses que variam em relação ao período e ao organismo, mas sempre na faixa de picomolar a

nanomolar) (Bagrov e Shapiro, 2008; Schoner, 2002; Schoner e Scheiner-Bobis, 2007). Especialmente no período de desenvolvimento fetal, a ligação da OUA a Na^+, K^+ -ATPase parece desempenhar efeito protetor frente a situações deletérias como falta de nutrientes (Li et al., 2010), promovendo no feto o crescimento de dendritos no SNC (Desfrere et al., 2009). Nesse contexto, estudos sugerem que a OUA em concentrações compatíveis com suas ações fisiológicas (entre 0,2 e 1,0 nM) desempenha uma ação importante na atividade de fatores de crescimento (Graves et al., 1984; Blaustein, 1994; Hilton et al., 1996; Dvela et al., 2011).

De fato, podemos destacar que a OUA é capaz de regular a viabilidade celular, quando em concentrações da mesma ordem de magnitude de seus níveis circulantes (Bagrov et al., 2009; Dvela et al., 2011), o que sugere uma relevância fisiológica para o efeito exercido pelos esteróides cardiotônicos na viabilidade celular. Dvela et al. (2011), sugerem que a OUA endógena pode afetar a estimulação de crescimento mediada por outros fatores de crescimento. Entretanto, apesar das evidências mostrarem uma ampla intercomunicação entre fatores de crescimento com a Na^+, K^+ -ATPase e com os esteróides cardiotônicos (Daniel et al., 2010; Kotova et al., 2002), os mecanismos envolvidos nessas interações ainda são desconhecidos.

O fato de a ligação entre OUA e a Na^+, K^+ -ATPase ocorrer com alta afinidade, justificaria as baixas doses de OUA capazes de desencadear a ativação de diferentes vias de sinalização. Estudos mostram que uma das vias ativadas é a $\text{IP}_3/\text{Ca}^{2+}$ (Inositol-trifosfato/Cálcio). Quando a OUA se liga a Na^+, K^+ -ATPase promove uma mudança conformacional que favorece a interação direta de uma região conservada no N-terminal da subunidade α com a região N-terminal do receptor de canal de Ca^{2+} IP_3R , presente no retículo endoplasmático, resultando em abertura e fechamento ritmados do canal. Além dessa interação, a OUA é capaz de promover a oscilação de Ca^{2+} por via dos canais de Ca^{2+} -voltage dependentes (Aizman e Aperia, 2003; Zhang et al., 2006; Aperia, 2007). Ainda, a enzima Na^+, K^+ -ATPase é capaz de ativar a via da Src quinase (Tian et al., 2006), por meio das interações proteína-proteína. Essa interação se deve principalmente ao fato de estar localizada em cavéolas (Yuan et al., 2005; Tian et al., 2006; Nguyen et al., 2007; Cai et al., 2008). As cavéolas consistem em um subconjunto dos *lipid rafts*, definidas pela presença da proteína caveolina (Parton e Simons, 2007). O conceito de *lipid raft* foi introduzido em 1997, quando se postulou a interação entre esfingolipídios, colesterol e proteína, formando complexos para atuar no tráfego e na sinalização da membrana plasmática (Simon e Gerl, 2010). Assim ocorre a consequente transativação do receptor de fator de crescimento epidermal (EGFR), que leva a estimulação da via da MAPK (proteína

quinase ativada por mitógeno) (Gerondakis, 1999). A via da MAPK, por sua vez pode ativar vários fatores de transcrição, tais como CREB (elemento de resposta ligado ao AMP cíclico) e o fator de transcrição nuclear kappa B (NF- κ B), os quais estão associados a inúmeros fatores neurotróficos e citocinas (Xie e Askari, 2002; Aizman e Aperia, 2003).

1.4 NF- κ B

Descoberto em 1986, o NF- κ B quando ativo, possui a capacidade de ligar-se a uma sequência de 10 pares de bases na região promotora do gene que codifica a cadeia leve κ das moléculas de anticorpo das células B (Sen e Baltimore, 1986). Este fator é um dímero, geralmente constituído pelas subunidades RelA (também chamado p65) e p50 (Baeuerle e Baltimore, 1996; Siebenlist, 1997). Em mamíferos existem cinco membros da família do fator de transcrição NF- κ B: RelA, RelB e c-Rel, e as proteínas precursoras NF- κ B1 (p105) e NF- κ B2 (p100) que são processadas a p50 e p52, respectivamente (Hayden e Gosh, 2004). As diferentes combinações de dímeros são responsáveis por ativar (por exemplo, pela ação do dímero p50/RelA) ou bloquear a expressão de genes distintos, como os homodímeros inibitórios p50/p50 e p52/p52 (Ghosh et al., 1998). Todos os elementos κ B possuem um domínio homólogo Rel que é responsável pela ligação ao DNA e pela dimerização.

O fator de transcrição NF- κ B é encontrado em uma variedade de tipos celulares, incluindo neurônios e microglia (Kaltschmidt et al., 1993). O NF- κ B pode ser ativado por estímulos pró-inflamatórios, tais como lipopolissacarídeo (LPS), citocinas (por exemplo, fator de necrose tumoral (TNF) e interleucina 1 beta (IL-1 β)) e EROs (Glezer et al., 2003; Munhoz et al., 2006; Hoffmann e Baltimore, 2006; Mattson e Meffert, 2006). Na ausência de estímulo, os dímeros de NF- κ B estão ligados às proteínas inibitórias I κ B, que mantém o complexo NF- κ B no citoplasma. Para que ocorra a ativação da via canônica do NF- κ B, é necessário que o complexo de quinases I κ B (IKK), formado por duas subunidades cataliticamente ativas IKK α , IKK β , e pela subunidade regulatória NF- κ B (*essential modifier* - NEMO) ou IKK γ , sejam ativados e promovam a fosforilação da proteína inibitória I κ B que uma vez fosforilada, é ubiquitinada e degradada via proteassoma, liberando os dímeros de NF- κ B, que conseqüentemente translocam para o núcleo (Perkins, 2007). A atividade transcricional nuclear do NF- κ B é depois controlada por modificações pós-translacionais (Hayden e Gosh, 2004; Oeckinghaus et al., 2011) (Figura 2).

De forma geral, duas principais vias de ativação do NF- κ B existem na célula. A via canônica é induzida pela maioria dos estímulos fisiológicos do NF- κ B, como por exemplo,

sinais emanados dos receptores de citocinas como o receptor do fator de necrose tumoral (TNFR), o receptor da interleucina-1 (IL-1R), os receptores de antígenos e receptores de reconhecimento de padrões moleculares associados a patógenos, incluindo o receptor do tipo *Toll* 4 (TLR4). A via canônica é caracterizada pela dependência dos elementos IKK β e NEMO, levando principalmente à fosforilação do I κ B α e à translocação nuclear de dímeros que em sua maioria contém a subunidade RelA. A via não canônica depende da fosforilação mediada pela IKK α , da subunidade p100 associada à RelB que leva ao processamento parcial da p100 gerando complexos p52/RelB. A via não canônica da sinalização do NF- κ B é induzida por membros específicos da família de citocinas TNF, como o ligante de CD40, o fator ativador de célula B (BAFF) e linfotoxina β (Hayden e Ghosh, 2004; Oeckinghaus et al., 2011) (Figura 1).

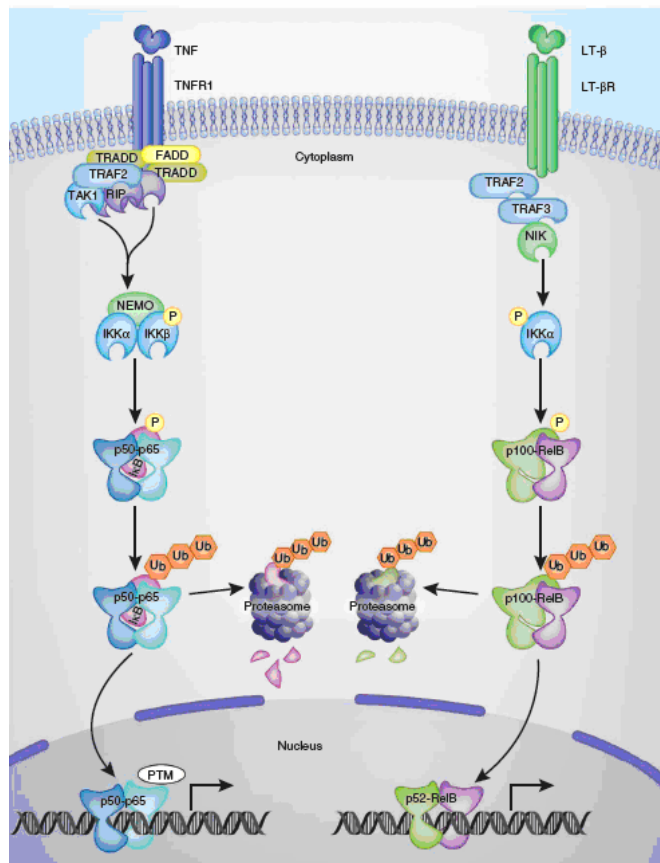
O NF- κ B, regula a expressão de genes que controlam a morte celular programada, a adesão celular, a proliferação, a inflamação e o remodelamento tecidual (Gerondakis et al., 1999; Pahl, 1999; Hayden e Ghosh, 2004; Bonizzi e Karin, 2004; Pasparakis et al., 2006; Oeckinghaus et al., 2011). Dados da literatura mostram que a ativação da via do NF- κ B pode modular a ativação da via canônica do WNT (Gordon et al., 2005), em células embrionárias de *Drosophila* e em linhagens celulares de rim, pâncreas e células tumorais de humanos. A relação funcional entre essas vias pode representar uma das chaves de controle de processos tumorais e neurodegenerativos (Kasperczyk et al., 2009). Dados da literatura indicam um papel dual do NF- κ B no SNC em doenças neurodegenerativas, pois foi demonstrado que a ativação do NF- κ B em neurônios promove sua sobrevivência, enquanto a ativação em células gliais e imunes medeia processos patológicos inflamatórios (Camandola e Mattson, 2007).

A grande relevância do NF- κ B decorre da quantidade de genes implicados em vários processos celulares que são regulados por esse fator de transcrição, tais como a Oxido Nítrico Sintase induzida (*Nosi*), *Il-1 β* , *Tnf*, *I κ B α* , além de genes relacionados à neuroproteção como o Fator Neurotrófico Derivado de Cérebro (*Bdnf*). Uma vez que a regulação da expressão destes genes tem consequências notáveis para o funcionamento cerebral, o NF- κ B é também reconhecido como um importante modulador dos processos de desenvolvimento, de plasticidade, neurodegenerativos e inflamatórios (O'Neill e Kaltschmidt, 1997; Mattson e Camandola, 2001; Mattson e Meffert, 2006; Tang et al., 2008).

Estudos recentes realizados em nosso laboratório mostraram que a após 1 hora da administração intrahipocampal de OUA em ratos ocorreu aumento na expressão de genes associados à sinalização inflamatória e possível neuroproteção através da modulação do

NF- κ B, em parte pela ação dos receptores glutamatérgicos tipo NMDA (N-metil-D-Aspartato)(Kawamoto et al., 2012a). Além disso, estudos em cultura de células primárias de cerebelo de rato mostraram o envolvimento da via NMDA-Src-Ras-MAPK na ativação do NF- κ B pela OUA (Sá Lima et al., em fase de publicação). Os resultados desses estudos confirmam a existência de um novo tipo de sinalização para a OUA no SNC (Kawamoto et al., 2012a).

Figura 1 - Vias de sinalização canônica e não canônica do NF- κ B. Na ausência de estímulo, os dímeros do NF- κ B encontram-se ligados à proteína inibitória I κ B, que retém o complexo inativo do NF- κ B no citoplasma. Na presença de estímulo, a proteína I κ B é degradada pela fosforilação mediada pelo complexo I κ B quinase (IKK), constituído das subunidades cataliticamente ativas IKK α e IKK β e pela subunidade regulatória NEMO. As proteínas I κ B fosforiladas são alvo para a ubiquitinação e para a degradação via proteassoma, que libera os dímeros de NF- κ B para translocar para o núcleo. A sinalização do NF- κ B ocorre por duas vias distintas, a via canônica esquematizada a esquerda e a não canônica, esquematizada a direita.



FONTE: Oeckinghaus et al. (2011).

1.5 Via de sinalização WNT

As proteínas WNT constituem uma família de glicoproteínas secretadas que são importantes mediadores da comunicação celular, e que participam de diversos processos celulares, na embriogênese e na homeostase de tecidos adultos, inclusive do SNC (Inestrosa e Arenas, 2010). A sinalização pela proteína WNT pode acontecer por meio de três vias conhecidas: a via canônica WNT/ β -CATENINA e duas vias não canônicas, uma relacionada à polaridade celular e a outra relacionada à sinalização por Ca^{2+} . No entanto, a mais estudada e conhecida é a via canônica WNT/ β -CATENINA, altamente conservada entre espécies, que regula a estabilidade da β -CATENINA citoplasmática, permitindo sua translocação para o núcleo (Logan e Nusse, 2004).

No momento da estimulação por WNT, dois receptores de membrana distintos atuam para iniciar a sinalização: o receptor de sete alças transmembrana chamado Frizzled e o receptor de lipoproteína de baixa densidade tipo 5 ou 6 (LRP-6/-5) (Bhanot et al., 1996; Pinson et al., 2000; Wehrli et al., 2001; Huang e He, 2008; Fiedler et al., 2011), que formam um complexo que inicia uma cascata de interações moleculares, levando à estabilização citoplasmática do modulador transcricional β -CATENINA. A β -CATENINA estável acumula-se no citoplasma e migra para o núcleo, aonde irá se complexar com membros da família do fator promotor de célula T/linfócito (TCF/LEF) (Fiedler et al., 2011; Billic et al., 2007), aumentando a expressão de genes como a *Ciclina D1* (Tetsu e McCormick, 1999), *c-Myc* (He et al., 1998), *VEGF* (Fator de Crescimento do Endotélio Vascular), *Endotelina-1*, *Dickkopf 1*, *TCF-1*, dentre outros (Freese et al., 2010).

Na ausência de estímulo, a estabilidade da proteína β -CATENINA é comprometida devido a sua ligação ao supressor tumoral *adenomatous polyposis coli* (APC) que favorece a ação das quinases Glicogênio Sintase Quinase-3 β (GSK-3 β) e caseína quinase-1 (CK1), que fosforilam os resíduos serina e treonina na porção N-terminal da β -CATENINA, sinalizando sua degradação através do sistema ubiquitina-proteassoma. As proteínas AXINA, APC, GSK-3 β e CK-1 compõem o complexo de destruição (Huang e He, 2008; Fiedler et al., 2011).

Essa via regula o destino celular, a proliferação, a auto-renovação de células-tronco e progenitoras, a diferenciação, a transformação, a migração e a adesão celular (Angers e Moon, 2009). A sinalização anormal da WNT/ β -CATENINA está associada ao aparecimento de câncer, osteoporose, a inflamação, ao envelhecimento e as doenças degenerativas (Logan e Nusse, 2004; Clevers, 2006; Huang e He, 2008; Hu et al., 2011). Mutações que levam ao aumento da estabilidade da β -CATENINA são observadas em tumores (Clevers et

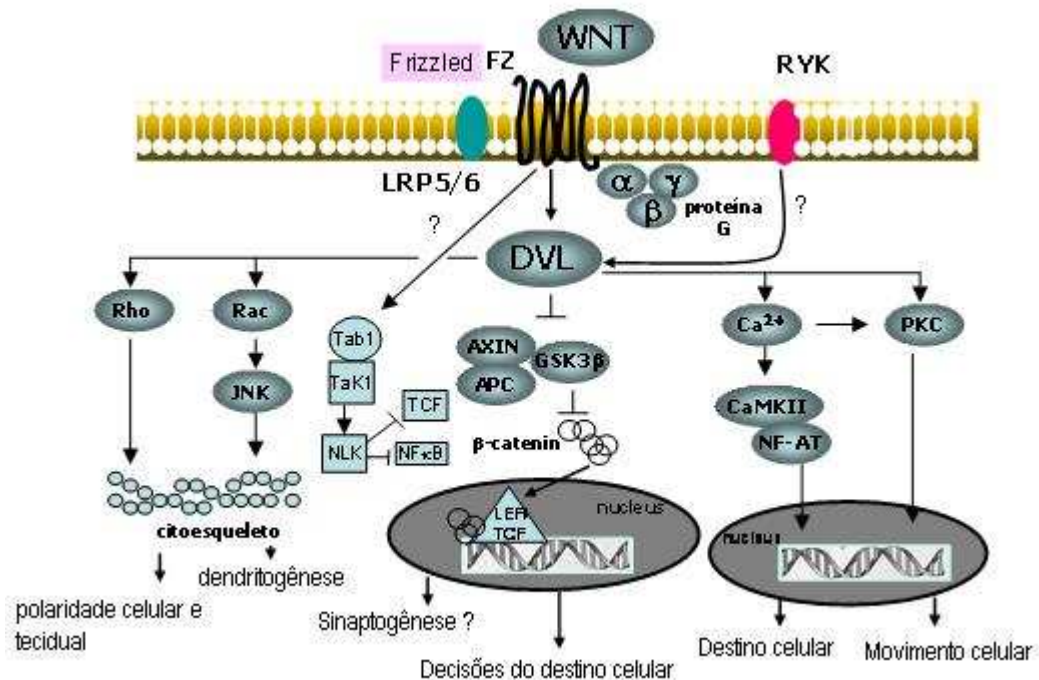
al., 2006; Barker et al., 2006), enquanto que a redução dos níveis de sinalização da β -CATENINA parece estar associada a doenças neurodegenerativas (Terstappen et al., 2006; Verkaar et al., 2011).

Na fase de desenvolvimento, a via canônica da WNT parece estimular a divisão das células progenitoras resultando na expansão do tubo neural e na diferenciação dessas células em neurônios (Chenn e Walsh, 2002). Na fase adulta, a via da WNT participa no aumento da proliferação das células tronco neuronais (Lie et al., 2005; Wexler et al., 2009). No SNC de mamíferos adultos, a neurogênese é considerada um processo ativo, que ocorre em duas regiões específicas do cérebro, a zona subgranular (SGZ) no giro denteado (hipocampo) e na zona subventricular (SVZ) no ventrículo lateral do prosencéfalo. A neurogênese engloba a proliferação celular e a especificação do destino das células neuronais progenitoras adultas, com subsequente diferenciação, maturação, movimentação e integração aos circuitos neuronais já existentes (Duan et al., 2008). Evidências sugerem que esses novos neurônios são essenciais para as funções cerebrais, como aprendizado, memória, olfato e modulação do humor (Lie et al., 2004).

Para regular a diferenciação de células e tecidos, a via WNT interage com outras vias de sinalização, como a Sonic Hedgehog (Liebner e Plate, 2010) e a NF- κ B, dentre outras (Hu et al., 2011). Aparentemente, a GSK-3 β , regulador negativo da β -CATENINA, tem papel central nessa interação, regulando positivamente o NF- κ B pela modulação do I κ B. Ainda, a β -CATENINA por si só interage com a subunidade p50 impedindo a ativação da via (Bournat et al., 2000; Hoeflich et al., 2000; Holmes et al., 2008; Vlantis et al., 2011). Recentemente, sugeriu-se que a β -CATENINA parece ser um potente estimulador da Na⁺,K⁺-ATPase. Sopjani et al. (2010) mostraram que o aumento da expressão de β -CATENINA em ovócitos de *Xenopus* parece aumentar o fluxo de íons pela bomba, através de sua estimulação. Alguns trabalhos sugerem que essa estimulação deve ocorrer porque a β -CATENINA é capaz de estimular o transporte e o aumento da expressão da proteína SGK1 (*serum- and glucocorticoid- inducible kinase1*) (Naishiro et al., 2005; Dehner et al., 2008), que regula a atividade de uma variedade de canais iônicos, inclusive da Na⁺, K⁺-ATPase (Lang et al., 2006; Boehmer et al., 2008a, b; Schuetz et al., 2008; Gehring et al., 2009; Krueger et al., 2009; Laufer et al., 2009; Lang et al., 2009). Além disso, a SGK1 regula a atividade de uma série de enzimas e proteínas, como a GSK-3, a β -CATENINA, o NF- κ B e o p53. (Lang et al., 2006, 2009; Tai et al., 2009). A SGK1 ainda participa da sinalização do BDNF em ratos (Lang et al., 2006). O BDNF regula a sobrevivência neuronal, a plasticidade, o humor e a formação de memória de longa duração (Lang et al., 2006).

Apesar de muito estudada no desenvolvimento embrionário, pouco se sabe sobre o papel da sinalização induzida pela WNT no SNC adulto. Evidências indicam que a via de sinalização WNT modula aspectos fundamentais do SNC adulto, como a neurogênese, a estabilidade sináptica e a plasticidade em algumas áreas do cérebro, o que remete essa via a possíveis benefícios terapêuticos (Inestrosa e Arenas, 2010; Kawamoto et al., 2012b). Drogas capazes de modular a via WNT podem se tornar ferramentas para a regeneração e a neuroproteção e para o tratamento de doenças associadas à perda de neurônios como, por exemplo, as doenças de Alzheimer e Parkinson (Logan e Nusse, 2004; Clevers, 2006; Huang e He, 2008).

Figura 2 - Esquema simplificado das vias de sinalização intracelular associadas à ação da proteína WNT nos receptores Frizzled (FZ). A ligação da proteína WNT ao Fz ativa uma proteína citoplasmática denominada Dishevelled (DVL). A DVL ativada induz a separação de um complexo que consiste de AXIN, *adenomatous polyposis coli* (APC), glicogênio sintase quinase 3 β (GSK-3 β) e β -catenina. Nas células que não são estimuladas pela WNT, a GSK-3 β fosforila a β -catenina que é então degradada pelo sistema proteossoma. Porém, a ativação da via resulta na inibição da GSK-3 β , que leva a um aumento nos níveis de β -catenina citoplasmática, que migra para o núcleo para formar o complexo da β -catenina com o fator de transcrição célula T específica (TCF) e com o fator reforçador (*enhancer*) do linfócito (LEF) que por sua vez, modula a transcrição de genes alvos. Além da via canônica ou WNT/ β -catenina, outras duas vias podem ser ativadas pela DVL: a via da polaridade planar celular (PCP), e a via WNT/cálcio, sendo que existem evidências de que pode ocorrer um *crossstalk* entre estas vias. A proteína WNT pode sinalizar também via Tab1/Tak 1 (proteína quinase ativada pelo fator de crescimento TGF- β) que ativa NLK (proteína quinase do tipo nemo) e que por sua vez reprime a ativação do fator de transcrição NF- κ B.



FONTE: Scavone C (2012).

6 CONCLUSÃO

Em conclusão, os nossos resultados sugerem que:

- 1) A OUA foi capaz de ativar a via de sinalização do NF- κ B após 1 hora, 10, 24 e 48 horas, seguindo um comportamento oscilatório.
- 2) A OUA também foi capaz de ativar a via canônica da WNT, sendo que 10 horas após a sua administração ocorreu aumento da fosforilação da proteína GSK-3 β , enquanto que em 24 horas, observamos aumento da translocação nuclear da β -CATENINA.
- 3) A OUA (10 nM) induziu aumento de BDNF após 1 hora, 10, 24 e 48 horas.

Os nossos dados mostram, portanto, que a OUA é capaz de ativar primeiramente a via do NF- κ B e tardiamente a via canônica da WNT. Dados da literatura exploram das mais diversas formas a extensa intercomunicação entre as vias NF- κ B e WNT/ β -CATENINA, assim como mostram extensa comunicação dessas vias com outras, como a AKT, ERK, BDNF e Sonic Hedgehog (não explorada nesse trabalho). Assim, mais estudos são necessários para ampliar o conhecimento referente aos mecanismos envolvidos na ativação das vias NF- κ B e WNT/ β -CATENINA pela OUA, e qual o papel fisiológico dessas vias para a viabilidade celular e para o organismo nos processos neuroadaptativos e na senescência.

REFERÊNCIAS

- Abramowitz J, Dai C, Hirschi KK, Dmitrieva RI, Doris PA, Liu L, Allen JC. Ouabain- and Marinobufagenin-Induced Proliferation of Human Umbilical Vein Smooth Muscle Cells and a Rat Vascular Smooth Muscle Cell Line, A7r5. *Circulation*. 2003;108:3048–53.
- Ahmed S, Reynolds BA, Weiss S. BDNF enhances the differentiation but not the survival of CNS stem cell-derived neuronal precursors. *J Neurosci*. 1995;15(8):5765-78.
- Aizman O, Aperia A. Na, K-ATPase as a signal transducer. *Ann NY Acad Sci*. 2003;986:489-96.
- Aizman O, Uhlén P, Lal M, Brismar H, Aperia A. Ouabain, a steroid hormone that signals with slow calcium oscillations. *PNAS*. 2001;98(23):13420-4.
- Akhtar RS, Ness JM, Roth KA. Bcl-2 family regulation of neuronal development and neurodegeneration. *Biochim Biophys Acta* 2004;1644(2-3):189-203.
- Albanese C, Wu K, D'Amico M, Jarrett C, Joyce D, Hughes J, Hult J, Sakamaki T, Fu M, Ben-Ze'ev A, Bromberg JF, Lamberti C, Verma U, Gaynor RB, Byers S, Pestell RG. IKK α regulates mitogenic signaling through transcriptional induction of cyclin D1 via Tcf. *Mol Biol Cell*. 2003;14(2):585-99.
- Albensi BC, Mattson MP. Evidence for the involvement of TNF and NF-kappaB in hippocampal synaptic plasticity. *Synapse*. 2000;35(2):151-9.
- Angers S, Moon RT. Proximal Events in Wnt signal transduction. *Nat Rev Mol Cell Biol*. 2009;7:468-77.
- Antonsson B, Montessuit S, Sanchez B, Martinou JC. Bax is present as a high molecular weight oligomer/complex in the mitochondrial membrane of apoptotic cells. *J Biol Chem*. 2001;276:11615–23.
- Aperia A. New roles for an old enzyme: Na,K-ATPase emerges as an interesting drug target. *J Intern Med*. 2007;261(1):44-52.
- Baeuerle PA, Baltimore D. NF-kB: ten years after. *Cell*. 1996;87:13-20.
- Bagrov AY, Shapiro JI. Endogenous digitalis: pathophysiologic roles and therapeutic applications. *Nat Clin Pract Nephrol*. 2008;4(7):378-92.
- Bagrov AY, Shapiro JI, Fedorova OV. Endogenous cardiotonic steroids: physiology, pharmacology, and novel therapeutic targets. *Pharmacol Rev*. 2009;61(1):9-38.
- Bakalkin G, Yakovleva T, Terenius L. NF-kappa B-like factors in the murine brain. Developmentally-regulated and tissue-specific expression. *Brain Res Mol*. 1993;20:137-46.

Balda MS, Matter K. Epithelial cell adhesion and the regulation of gene expression. *Trends Cell Biol.* 2003;13(6):310-18.

Barken D, Wang CJ, Kearns J, Cheong R, Hoffmann A, Levchenko A. Comment on "Oscillations in NF-kappaB signaling control the dynamics of gene expression". *Science.* 2005;308(5718):52.

Barker N, Clevers H. Mining the Wnt pathway for cancer therapeutics. *Nat Rev Drug Discov.* 2006;5:997–1014.

Barwe SP, Anilkumar G, Moon SY, Zheng Y, Whitelegge JP, Rajasekaran SA, Rajasekaran AK. Novel role for Na,K-ATPase in phosphatidylinositol 3-kinase signaling and suppression of cell motility. *Mol Biol Cell.* 2005;16:1082–94.

Beinke S, Robinson MJ, Hugunin M, Ley SC. Lipopolysaccharide activation of the TPL-2/MEK extracellular signal-regulated kinase mitogen activated protein kinase cascade is regulated by IκB kinase-induced proteolysis of NF-κB1 p105. *Mol Cell Biol.* 2004;24:9658–67.

Bertorello AM, Katz AI. Short-term regulation of renal Na,K-ATPase activity: physiological relevance and cellular mechanisms. *Am J Physiol.* 1993;265:F743-F55.

Bhanot P, Brink M, Samos CH, Hsieh JC, Wang Y, Macke JP, Andrew D, Nathans J, Nusse R. A new member of the frizzled family from *Drosophila* functions as a Wingless receptor. *Nature.* 1996;382(6588):225-30.

Bhoj VG, Chen ZJ. Ubiquitylation in innate and adaptive immunity. *Nature.* 2009;458:430-7.

Bilic J, Huang YL, Davidson G, Zimmermann T, Cruciat CM, Bienz M, Niehrs C. Wnt induces LRP6 Signalosomes and Promotes Dishvelled-Dependent LRP6 Phosphorylation. *Science.* 2007;316:1619-22.

Blanco G, Mercer RW. Isozymes of the Na-K-ATPase: heterogeneity in structure, diversity in function. *Am J Physiol.* 1998;275:F633-F50.

Blaustein MP. Endogenous Ouabain: Physiological Activity and Pathophysiological Implications. *Clin Investig.* 1994;72:706-7.

Blaustein MP. Physiological effects of endogenous ouabain: control of intracellular Ca²⁺ stores and cell responsiveness. *Am J Physiol.* 1993;264:C1367-C87.

Boehmer C, Laufer J, Jeyaraj S, Klaus F, Lindner R, Lang F, Palmada M. Modulation of the voltage-gated potassium channel Kv1.5 by the SGK1 protein kinase involves inhibition of channel ubiquitination. *Cell Physiol Biochem.* 2008a;22:591–600.

Boehmer C, Palmada M, Klaus F, Jeyaraj S, Lindner R, Laufer J, Daniel H, Lang F. The peptide transporter PEPT2 is targeted by the protein kinase SGK1 and the scaffold protein NHERF2. *Cell Physiol Biochem.* 2008b;22:705–14.

Bonizzi G, Karin M. The two NF-kappaB activation pathways and their role in innate and adaptive immunity. *Trends Immunol.* 2004;25(6):280-8.

Bournat JC, Brown AM, Soler AP. Wnt-1 dependent activation of the survival factor NF-kappaB in PC12 cells. *J Neurosci Res.* 2000;61(1):21-32.

Bradford MM. A Rapid and Sensitive Method for the Quantitation of Microgram Quantities of Protein Utilizing the Principle of Protein-Dye Binding. *Analyt Biochem.* 1976;72:248-54.

Cacci E, Claasen JH, Kokaia Z. Microglia-derived tumor necrosis factor-alpha exaggerates death of newborn hippocampal progenitor cells in vitro. *J Neurosci Res.* 2005;80(6):789-97.

Cai T, Wang H, Chen Y, Liu L, Gunning WT, Quintas LE, Xie ZJ. Regulation of caveolin-1 membrane trafficking by the Na/K-ATPase. *J Cell Biol.* 2008;182(6):1153-69.

Calabrese EJ. Converging concepts: adaptative response, preconditioning, and the Yerkes-Dodson Law are manifestations for hormesis. *Ageing Res Rev.* 2008a;7(1):8-20.

Calabrese EJ. Hormesis and Medicine. *Br J Clin Pharmacol.* 2008b;66(5):594-617.

Calabrese EJ. Overcompensation stimulation: a mechanism for hormetic effects. *Crit Rev Toxicol.* 2001;31(4-5):425-70.

Camandola S, Mattson MP. NF-kappa B as a therapeutic target in neurodegenerative diseases. *Expert Opin Ther Targets.* 2007;11(2):123-32.

Carayol N, Wang CY. IKKalpha stabilizes cytosolic beta-catenin by inhibiting both canonical and non-canonical degradation pathways. *Cell Signal.* 2006;18(11):1941-6.

Chenn A, Walsh CA. Regulation of cerebral cortical size by control of cell cycle exit in neural precursors. *Science.* 2002;297(5580):365-9.

Cheong R, Bergmann A, Werner SL, Regal J, Hoffmann A, Levchenko A. Transient IkappaB kinase activity mediates temporal NF-kappaB dynamics in response to a wide range of tumor necrosis factor-alpha doses. *J Biol Chem.* 2006;281(5):2945-50.

Cheung EC, Melanson-Drapeau L, Cregan SP, Vanderluit JL, Ferguson KL, McIntosh WC, Park DS, Bennett SA, Slack RS. Apoptosis-inducing factor is a key factor in neuronal cell death propagated by BAX-dependent and BAX-independent mechanisms. *J Neurosci.* 2005;25:1324-34.

Chow DC, Forte JG. Functional significance of the beta-subunit for heterodimeric P-type ATPases. *J Exp Biol.* 1995;198:1-17.

Clevers H. Wnt/beta-catenin signaling in development and disease. *Cell.* 2006;127:469-80.

Daniel L, Etkovitz N, Weiss SR, Rubinstein S, Ickowicz D, Breitbart H. Regulation of the sperm EGF receptor by ouabain leads to initiation of the acrosome reaction. *Dev Biol.* 2010;344:650-7.

Davidson G, Wu W, Shen J, Bilic J, Fenger U, Stannek P, Glinka A, Niehrs C. Casein kinase 1 gamma couples Wnt receptor activation to cytoplasmic signal transduction. *Nature.* 2005;438(7069):867-72.

Dehner M, Hadjihannas M, Weiske J, Huber O, Behrens J. Wnt signaling inhibits Forkhead box O3a-induced transcription and apoptosis through up-regulation of serum- and glucocorticoid-inducible kinase 1. *J Biol Chem.* 2008;283(28):19201-10.

Deng G, Song GA, Pong E, Sleisenger M, Kim YS. Promoter methylation inhibits APC gene expression by causing changes in chromatin conformation and interfering with the binding of transcription factor CCAAT-binding factor. *Cancer Res.* 2004;64(8):2692-8.

Deng J, Miller SA, Wang HY, Xia W, Wen Y, Zhou BP, Li Y, Lin SY, Hung MC. Beta-catenin interacts with and inhibits NF-kappa B in human colon and breast cancer. *Cancer Cell.* 2002;2(4):323-34.

Desfrere L, Karlsson M, Hiyoshi H, Malmersjö S, Nanou E, Estrada M, Miyakawa A, Lagercrantz H, Manira AE, Lal M, Uhlén P. Na, K-ATPase signal transduction triggers CREB activation and dendritic growth. *PNAS.* 2009;7(106):2212-7.

Duan X, Kang E, Liu CY, Ming GL, Song H. Development of neural stem cell in the adult brain. *Curr Opin Neurobiol.* 2008;18(1):108-15.

Dvela M, Rosen H, Cohen-Ben AH, Lichtstein D. Endogenous ouabain regulates cell viability. *Am J Physiol Cell Physiol.* 2011: In press.

Embi N, Rylatt DB, Cohen P. Glycogen synthase kinase-3 from rabbit skeletal muscle. Separation from cyclic-AMP-dependent protein kinase and phosphorylase kinase. *Eur J Biochem.* 1980;107:519-27.

Er E, Oliver L, Cartron PF, Juin P, Manon S, Vallette FM. Mitochondria as the target of the pro-apoptotic protein Bax. *Biochim Biophys Acta.* 2006;1757:1301-11.

Ewart HS, Klip A. Hormonal regulation of the Na⁺ K⁺-ATPase: mechanisms underlying rapid and sustained changes in pump activity. *Am J Physiol.* 1995;269 (Cell Physiol. 38):C295-C311.

Fan W, Agarwal N, Cooper NG. The role of CaMKII in BDNF-mediated neuroprotection of retinal ganglion cells (RGC-5). *Brain Res.* 2006;1067(1):48-57.

Fischer EC, Howie SEM. *Shh and Gli Signalling and Development.* Austin: Bioscience L; 2007. p. 1-8.

Fiedler M, Mendoza-Topaz C, Rutherford RT, Mieszczanek J, Bienz M. Dishvelled interacts with the DIX domain polymerization interface of Axin to interfere with its function in down-regulating β -catenin. *PNAS.* 2011;108:1937-42.

- Fisher CE, Howie SE. The role of megalin (LRP-2/Gp330) during development. *Dev Biol.* 2006;296(2):279-97.
- Francis SH, Corbin JD. Structure and function of cyclic nucleotide-dependent protein kinases. *Annu Rev Physiol.* 1994;56:237-72.
- Freese JL, Pino D, Pleasure SJ. Wnt signaling in development and disease. *Neurobiol Dis.* 2010;38(2):148-53.
- Freitas TP, Rezin GT, Gonçalves CL, Jeremias GC, Gomes LM, Scaini G, Teodorak BP, Valvassori SS, Quevedo J, Streck EL. Evaluation of citrate synthase activity in brain of rats submitted to an animal model of mania induced by ouabain. *Mol Cell Biochem.* 2010;341(1-2):245-9.
- Freyberg Z, Ferrando SJ, Javitch JA. Roles of the Akt/GSK-3 and Wnt signaling pathways in schizophrenia and antipsychotic drug action. *Am J Psychiatry.* 2010;167(4):388-96.
- Geering K. Functional roles of Na, K-ATPase subunits. *Curr Opin Nephrol Hypertens.* 2008;17(5):526-32.
- Gehring EM, Zurn A, Klaus F, Laufer J, Sopjani M, Lindner R, Strutz-Seebohm N, Tavare JM, Boehmer C, Palmada M, Lang UE, Seebohm G, Lang F. Regulation of the glutamate transporter EAAT2 by PIKfyve. *Cell Physiol Biochem.* 2009;24:361-8.
- Gerondakis S, Grossmann M, Nakamura Y, Pohl T, Grumont R. Genetic approaches in mice to understand Rel/NF-kappaB and IkappaB function: transgenics and knockouts. *Oncogene.* 1999;18:6888-95.
- Geva-Zatorsky N, Rosenfeld N, Itzkovitz S, Milo R, Sigal A, Dekel E, Yarnitzky T, Liron Y, Polak P, Lahav G, Alon U. Oscillations and variability in the p53 system. *Mol Syst Biol.* 2006;2:1-13.
- Ghosh S, May MJ, Kopp EB. NF-kB and rel proteins: evolutionary conserved mediators of immune responses. *Annu Rev Immunol.* 1998;16:225-60.
- Glass CK, Saijo K, Winner B, Marchetto MC, Gage FH. Mechanisms underlying inflammation in neurodegeneration. *Cell.* 2010;140(6):918-34.
- Glezer I, Munhoz CD, Kawamoto EM, Marcourakis T, Avellar MC, Scavone C. MK-801 and 7-Ni attenuate the activation of brain NF-kappa B induced by LPS. *Neuropharmacology.* 2003;45(8):1120-9.
- Gloor SM. Relevance of Na,K-ATPase to local extracellular potassium homeostasis and modulation of synaptic transmission. *FEBS Lett.* 1997;412(1):1-4.
- Glynn IM. All hands to the sodium pump. *J Physiol.* 1993;462:1.
- Golden WC, Martin LJ. Low-dose ouabain protects against excitotoxic apoptosis and up-regulates nuclear Bcl-2 in vivo. *Neuroscience.* 2006;137(1):133-44.

Gordon MD, Dionne MS, Schneider DS, Nusse R. WntD is a feedback inhibitor of Dorsal/NF- κ B in *Drosophila* development and immunity. *Nature*. 2005;437:746-9.

Gottardi CJ, Gumbiner BM. Adhesion signaling: how beta-catenin interacts with its partners. *Curr Biol*. 2001;11(19):R792-4.

Graves SW, Williams GH. An endogenous ouabain-like factor associated with hypertensive pregnant women. *J Clin Endocrinol Metab*. 1984;59(6):1070-4.

Gross A, Jockel J, Wei MC, Korsmeyer SJ. Enforced dimerization of BAX results in its translocation, mitochondrial dysfunction and apoptosis. *EMBO J*. 1998;17:3878-85.

Guerrini L, Blasi F, Denis-Donini S. Synaptic activation of NF- κ B by glutamate in cerebellar granule neurons in vitro. *PNAS*. 1995;92(20):9077-81.

Haller D, Russo MP, Sartor RB, Jobin C. IKK β and phosphatidylinositol 3-kinase/Akt participate in non-pathogenic Gram-negative enteric bacteria induced RelA phosphorylation and NF- κ B activation in both primary and intestinal epithelial cell lines. *J Biol Chem*. 2002;277:38168-78

Hamid H, Gao Y, Lei Z, Houglund MT, El-Mallakh RS. Effect of ouabain on sodium pump alpha-isoform expression in an animal model of mania. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*. 2009;33(7):1103-6.

Hamlyn JM, Lu ZR, Manunta P, Ludens JH, Kimura K, Shah JR, Laredo J, Hamilton JP, Hamilton MJ, Hamilton BP. Observations on the nature, biosynthesis, secretion and significance of endogenous ouabain. *Clin Exp Hypertens*. 1998;20(5-6):523-33.

Hayden MS, Ghosh S. Signaling to NF- κ B. *Genes Dev*. 2004;18(18):2195-224.

Hayden MS, Ghosh S. Shared principles in NF- κ B signaling. *Cell*. 2008;132:344-62.

He TC, Sparks AB, Rago C, Hermeking H, Zawel L, Costa LT, Morin PJ, Vogelstein B, Kinzler KW. Identification of c-MYC as a target of the APC pathway. *Science*. 1998;281:1509-12.

Hilton PJ, White RW, Lord GA, Garner GV, Gordon DB, Hilton MJ, Forni LG, McKinnon W, Ismail FM, Keenan M, Jones K, Morden WE. An inhibitor of the sodium pump obtained from human placenta. *Lancet*. 1996;348(9023):303-5.

Hoberg JE, Popko AE, Ramsey CS, Mayo MW. I κ B kinase alpha mediated derepression of SMRT potentiates acetylation of RelA/p65 by p300. *Mol Biol Cell*. 2006;26(457-471).

Hoeflich KP, Luo J, Rubie EA, Tsao MS, Jin O, Woodgett JR. Requirement for glycogen synthase kinase-3 β in cell survival and NF- κ B activation. *Nature*. 2000;406(6791):86-90.

Hoffmann A, Baltimore, D. Circuitry of nuclear factor κ B signaling. *Immunol Rev*. 2006;210:171-86.

Hoffmann A, Levchenko A, Scott ML, Baltimore D. The I κ B-NF κ B signaling module: temporal control and selective gene activation. *Science*. 2002;298:1241-5.

Holmes T, O'Brien TA, Knight R, Lindeman R, Symonds G, Dolnikov A. The role of glycogen synthase kinase-3 β in normal haematopoiesis, angiogenesis and leukaemia. *Curr Med Chem*. 2008;15(15):1493-9.

Hsu YT, Wolter KG, Youle RJ. Cytosol-to-membrane redistribution of Bax and Bcl-X(L) during apoptosis. *PNAS*. 1997;94:3668-72.

Hu LW, Kawamoto EM, Brietzke E, Scavone C, Lafer B. The role of Wnt signaling and its interaction with diverse mechanisms of cellular apoptosis in the pathophysiology of bipolar disorder. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*. 2011;15(35):11-7.

Huang EJ, Reichardt LF. Trk receptors: roles in neuronal signal transduction. *Annu Rev Biochem*. 2003;72:609-42.

Huang H, He X. Wnt/ β -catenin signaling: new (and old) players and new insights. *Curr Opin Cell Biol*. 2008;20(119-125).

Inestrosa NC, Arenas E. Emerging roles of Wnts in the adult nervous system. *Nat Rev Neurosci*. 2010;11(2):77-86.

Ingham PW, McMahon AP. Hedgehog signaling in animal development: paradigms and principles. *Genes Dev*. 2001;15:3059-87.

Inoue N, Matsui H. Activation of a brain type Na pump after glutamate excitation of cerebral neurons. *Brain Res*. 1990;534:309-400.

Iskra EB, Vermehren-Schmaedick A, Balkowiec A. Tumor necrosis factor- α increases brain-derived neurotrophic factor expression in trigeminal ganglion neurons in an activity-dependent manner. *Neuroscience*. 2011;180:322-33.

Iwai A, Marusawa H, Matsuzawa S, Fukushima T, Hijikata M, Reed JC, Shimotohno K, Chiba T. Siah-1L, a novel transcript variant belonging to the human Siah family of proteins, regulates beta-catenin activity in a p53-dependent manner. *Oncogene*. 2004;23(45):7593-600.

Jeong SJ, Pise-Masison CA, Radonovich MF, Park HU, Brady JN. Activated AKT regulates NF- κ B activation, p53 inhibition and cell survival in HTLV-1-transformed cells. *Oncogene*. 2005;24(44):6719-28.

Jope RS, Yuskaitis CJ, Beurel E. Glycogen synthase kinase-3 (GSK3): inflammation, diseases, and therapeutics. *Neurochem Res*. 2007;32(4-5):577-95.

Jornada LK, Moretti M, Valvassori SS, Ferreira CL, Padilha PT, Arent CO, Fries GR, Kapczinski F, Quevedo J. Effects of mood stabilizers on hippocampus and amygdala BDNF levels in an animal model of mania induced by ouabain. *J Psychiatr Res*. 2010;44(8):506-10.

Kaltschmidt B, Kaltschmidt C. NF-kappaB in the nervous system. *Cold Spring Harb Perspect Biol.* 2009;1(3) a001271.

Kaltschmidt C, Kaltschmidt B, Baeuerle PA. Brain synapses contain inducible forms of the transcription factor NF-kappa B. *Mech Dev.* 1993;43(2-3):135-47.

Kaltschmidt C, Kaltschmidt B, Baeuerle PA. Stimulation of ionotropic glutamate receptors activates transcription factor NF-kappa B in primary neurons. *PNAS.* 1995;92(21):9618-22.

Kaplan JH. Biochemistry of Na, K-ATPase. *Annu Rev Biochem.* 2002;71:511-35.

Karpova LV, Bulygina E, Boldyrev AA. Different neuronal Na⁺/K⁺-ATPase isoforms are involved in diverse signaling pathways. *Cell Biochem Funct.* 2010;28:135-41.

Kasperczyk H, Baumann B, Debatin KM, Fulda S. Characterization of sonic hedgehog as a novel NF-kB target gene that promotes NF-kB-mediated apoptosis resistance and tumor growth *in vivo*. *FASEB J.* 2009;23(1):21-33.

Kawamoto EM, Lima LS, Munhoz CD, Yshii LM, Kinoshita PF, Amaral FG, Pestana RRF, Orellana AMM, Cipolla-Neto J, Britto LRG, Avellar MCW, Rossoni LV, Scavone C. Influence of N-Methyl-D-Aspartate Receptors on Ouabain Activation of Nuclear Factor- κ B in the Rat Hippocampus. *J Neurosci Res.* 2012a;90:213–28.

Kawamoto EM, Gleichmann M, Yshii LM, Sá Lima L, Mattson MP, Scavone C. The influence of activation of canonical Wnt signaling by Wnt 3a protein on the vulnerability of PC12 cells to oxidative and apoptotic insults. *Braz J Med Biol Res.* 2012b; 45(1):58-67.

Kawamura A, Guo J, Itagaki Y, Bell C, Wang Y, Hauptert J, Garner T, Magil S, Gallagher RT, Berova N, Nakanishi K. On the structure of endogenous ouabain. *PNAS.* 1999;96(12):6654–9.

Kearns JD, Basak S, Werner SL, Huang CS, Hoffmann A. IkappaBepsilon provides negative feedback to control NF-kappaB oscillations, signaling dynamics, and inflammatory gene expression. *J Cell Biol.* 2006;173:659-64.

Kim HJ, Hawke N, Baldwin A S. NF- κ B and IKK as therapeutic targets in cancer. *Cell Death Differ.* 2006;13:738–47.

Kim JH, Kim B, Cai L, Choi HJ, Ohgi KA, Tran C, Chen C, Chung CH, Huber O, Rose DW, Sawyers CL, Rosenfeld MG, Baek SH. Transcriptional regulation of a metastasis suppressor gene by Tip60 and beta-catenin complexes. *Nature.* 2005;434(7035):921-6.

Kometiani P, Li J, Gnudi L, Kahn BB, Askari A, Xie Z. Multiple signal transduction pathways link Na⁺/K⁺-ATPase to growth-related genes in cardiac myocytes. The roles of Ras and mitogen-activated protein kinases. *J Biol Chem.* 1998;273:15249-56.

Komiyama Y, Nishimura N, Munakata M, Mori T, Okuda K, Nishino N, Hirose S, Kosaka C, Masuda M, Takahashi H. Identification of endogenous ouabain in culture supernatant of PC12 cells. *J Hypertens.* 2001;19:229-36.

Korte M, Carroll P, Wolf E, Brem G, Thoenen H, Bonhoeffer T. Hippocampal long-term potentiation is impaired in mice lacking brain-derived neurotrophic factor. *PNAS*. 1995;92(19):8856-60.

Korte M, Staiger V, Griesbeck O, Thoenen H, Bonhoeffer T. The involvement of brain-derived neurotrophic factor in hippocampal long-term potentiation revealed by gene targeting experiments. *J Physiol Paris*. 1996;90(3-4):157-64.

Kotova O, Galuska D, Essén-Gustavsson B, Chibalin AV. Metabolic and signaling events mediated by cardiotonic steroid ouabain in rat skeletal muscle. *Cell Mol Biol*. 2006;52(8):48-57.

Krueger B, Haerteis S, Yang L, Hartner A, Rauh R, Korbmacher C, Diakov A. Cholesterol depletion of the plasma membrane prevents activation of the epithelial sodium channel (ENaC) by SGK1. *Cell Physiol Biochem*. 2009;24:605–18.

Laemmli UK. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature*. 1970;227(5259):680-5.

Lamberti C, Lin KM, Yamamoto Y, Verma U, Verma IM, Byers S, Gaynor RB. Regulation of beta-catenin function by the IkappaB kinases. *J Biol Chem*. 2001;276(45):42276-86.

Lang F, Artunc F, Vallon V. The physiological impact of the serum and glucocorticoid-inducible kinase SGK1. *Curr Opin Nephrol Hypertens*. 2009;18:439–48.

Lang F, Böhmer C, Palmada M, Seebohm G, Strutz-Seebohm N, Vallon V. (Patho)physiological significance of the serum- and glucocorticoid-inducible kinase isoforms. *Physiol Rev*. 2006;86(4):1151-78.

Larre I, Cereijido M. Na,K-ATPase is the putative membrane receptor of hormone ouabain. *Commun Integr Biol*. 2010;3:625-8.

Laufer J, Boehmer C, Jeyaraj S, Knuwer M, Klaus F, Lindner R, Palmada M, Lang F. The C-terminal PDZ-binding motif in the Kv1.5 potassium channel governs its modulation by the Na⁺/H⁺ exchanger regulatory factor 2. *Cell Physiol Biochem*. 2009;23:25-36.

Lee S, Andrieu C, Saltel F, Destaing O, Auclair J, Pouchkine V, Michelon J, Salaun B, Kobayashi R, Jurdic P, Kieff ED, Sylla BS. IkappaB kinase beta phosphorylates Dok1 serines in response to TNF, IL-1, or gamma radiation. *PNAS*. 2004;101(50):17416-21.

Li J, Khodus GR, Kruusm M, Kamali-Zare P, Liu XL, Eklöf AC, Zelenin S, Brismar H, Aperia A. Ouabain protects against adverse developmental programming of the kidney. *Nature*. 2010;1(42):1-7.

Lie DC, Colamarino SA, Song HJ, Désiré L, Mira H, Consiglio A, Lein ES, Jessberger S, Lansford H, Dearie AR, Gage FH. Wnt signalling regulates adult hippocampal neurogenesis. *Nature*. 2005;437(7063):1370-5.

Lie DC, Song H, Colamarino SA, Ming GL, Gage FH. Neurogenesis in the adult brain: new strategies for central nervous system diseases. *Annu Rev Pharmacol Toxicol.* 2004;44:399-421.

Liebner S, Plate KH. Differentiation of the brain vasculature: the answer came blowing by the Wnt. *J Angiogenes Res.* 2010;2(1):1-10.

Lim JY, Park SI, Oh JH, Kim SM, Jeong CH, Jun JA, Lee KS, Oh W, Lee JK, Jeun SS. Brain-derived neurotrophic factor stimulates the neural differentiation of human umbilical cord blood-derived mesenchymal stem cells and survival of differentiated cells through MAPK/ERK and PI3K/Akt-dependent signaling pathways. *J Neurosci Res.* 2008;86(10):2168-78.

Lingrel JB, Kuntzweiler T. Na, K-ATPase. *J Biol Chem.* 1994;269:19659.

Liu J, Stevens J, Rote CA, Yost HJ, Hu Y, Neufeld KL, White RL, Matsunami N. Siah-1 mediates a novel beta-catenin degradation pathway linking p53 to the adenomatous polyposis coli protein. *Mol Cell.* 2001;7(5):927-36.

Liu L, Abramowitz J, Askari A, Allen JC. Role of caveolae in ouabain-induced proliferation of cultured vascular smooth muscle cells of the synthetic phenotype. *Am J Physiol.* 2004;287:H2173-H82.

Logan C, Nusse R. The Wnt signaling pathway in development and disease. *Annu Rev Cell Dev Biol.* 2004;20:781-810.

Madrid LV, Mayo MW, Reuther JY, Baldwin AS. Akt stimulates the transactivation potential of the RelA/p65 subunit of NFkB through utilization of the Ikb kinase and activation of the mitogen- activated protein kinase p38. *J Biol Chem.* 2001;276:18934-40.

Malik N, Canfield VA, Beckers MC, Gros P, Levenson R. Identification of the Mammalian Na,K-ATPase b3 Subunit. *J Biol Chem.* 1996;271(37):22754-8.

Marini AM, Jiang X, Wu W, Tain F, Zhu D, Okagaki P, Lipsky RH. Role of brain-derived neurotrophic factor and NF-kappaB in neuronal plasticity and survival: from genes to phenotype. *Restor Neurol Neurosci.* 2004;22:121-30.

Market CL, Moller F. Multiple forms of enzymes: Tissue, ontogenic, and species specific patterns. *Biochemistry.* 1959;45:753-63.

Marks MJ, Seeds NW. A heterogeneous ouabain-ATPase interaction in mouse brain. *Life Sci.* 1978;23 (27-28):2735-44

Martin M, Rehani K, Jope RS, Michalek SM. Toll-like receptor-mediated cytokine production is differentially regulated by glycogen synthase kinase 3. *Nat Immunol.* 2005;6:777-84.

Matsuzawa SI, Reed JC. Siah-1, SIP, and Ebi collaborate in a novel pathway for beta-catenin degradation linked to p53 responses. *Mol Cell.* 2001;7(5):915-26.

Mattioli I, Sebald A, Bucher C, Charles RP, Nakano H, Doi T, Kracht M, Schmitz ML. Transient and selective NF-kappa B p65 serine 536 phosphorylation induced by T cell costimulation is mediated by I kappa B kinase beta and controls the kinetics of p65 nuclear import. *J Immunol.* 2004;172(10):6336-44.

Mattson MP. Apoptosis in neurodegenerative disorders. *Nat Rev Mol Cell Biol.* 2000;1:120-9.

Mattson MP. Glutamate and neurotrophic factors in neuronal plasticity and disease. *Ann N Y Acad Sci.* 2008;1144:97-112.

Mattson MP, Camandola S. NF-kappaB in neuronal plasticity and neurodegenerative disorders. *J Clin Invest.* 2001;107(3):247-54.

Mattson MP, Meffert MK. Roles for NF-kappaB in nerve cell survival, plasticity, and disease. *Cell Death Differ.* 2006;13(5):852-60.

McDonough AA, Farley RA. Regulation of Na,K-ATPase activity. *Curr Opin Nephrol Hypertens.* 1993;2:725-34.

Meffert MK, Chang JM, Wiltgen BJ, Fanselow MS, Baltimore D. NF-kappa B functions in synaptic signaling and behavior. *Nat Neurosci.* 2003;6(10):1072-8.

Mercer RW. Structure of the Na, K-ATPase. *Int Rev Cytol.* 1993;137:139.

Miller FD, Pozniak CD, Walsh GS. Neuronal life and death: an essential role for the p53 family. *Cell Death Differ.* 2000;7:880-8.

Munhoz CD, Lepsch LB, Kawamoto EM, Malta MB, de Sá Lima L, Avellar MC, Sapolsky RM, Scavone C. Chronic unpredictable stress exacerbates lipopolysaccharide-induced activation of nuclear factor-kappaB in the frontal cortex and hippocampus via glucocorticoid secretion. *J Neurosci.* 2006;26(14):3813-20.

Munhoz CD, Sorrells SF, Caso JR, Scavone C, Sapolsky RM. Glucocorticoids exacerbate lipopolysaccharide-induced signaling in the frontal cortex and hippocampus in a dose-dependent manner. *J Neurosci.* 2010;30(41):13690-8.

Musial A, Eissa NT. Inducible nitric-oxide synthase is regulated by the proteasome degradation pathway. *J Biol Chem.* 2001;276(26):24268-73.

Naishiro Y, Yamada T, Idogawa M, Honda K, Takada M, Kondo T, Imai K, Hirohashi S. Morphological and transcriptional responses of untransformed intestinal epithelial cells to an oncogenic beta-catenin protein. *Oncogene.* 2005;24(19):3141-53.

Nathanson JA, Scavone C, Scanlon C, McKee M. The cellular Na⁺ pump as a site of action for carbon monoxide and glutamate: a mechanism for long-term modulation of cellular activity. *Neuron.* 1995;14(4):781-94.

Nawa H, Carnahan J, Gall C. BDNF protein measured by a novel enzyme immunoassay in normal brain and after seizure: partial disagreement with mRNA levels. *Eur J Neurosci.* 1995;7(7):1527-35.

Nelson DE, Ihekweba AEC, Elliott M, Johnson JR, Gibney CA, Foreman BE, Nelson G, See V, Horton CA, Spiller DG, Edwards SW, McDowell HP, Unitt JF, Sullivan E, Grimley R, Benson N, Broomhead D, Kell DB, White MRH. Oscillations in NF-kappaB signaling control the dynamics of gene expression. *Science*. 2004;306:704-8.

Nesher M, Shpolansky U, Rosen H, Lichtstein D. The digitalis-like steroid hormones: new mechanisms of action and biological significance. *Life Sci*. 2007;80(23):2093-107.

Nestler EJ, Greengard P. Serine and threonine phosphorylation. In: Siegel GJ, Agranoff BW, Albers RW, Fisher SK, Uhler MD, eds. *Basic neurochemistry: molecular, cellular and medical aspects*. 6th ed. Philadelphia: Lippincott-Raven; 1999. p. 471–495.

Nguyen AN, Wallace DP, Blanco G. Ouabain binds with high affinity to the Na,K-ATPase in human polycystic kidney cells and induces extracellular signal-regulated kinase activation and cell proliferation. *J Am Soc Nephrol*. 2007;18(1):46-57.

O'Neill LAJ, Kaltschmidt C. NF-kB: a crucial transcription factor for glial and neuronal cell function. *Trends Neurosci*. 1997;20(6):252-8.

Oeckinghaus A, Hayden MS, Ghosh S. Crosstalk in NF-kB signaling pathways. *Nat Immunol*. 2011;12(8):695-708.

Pahl HL. Activators and target genes of Rel/NF-kappaB transcription factors. *Oncogene*. 1999;18:6853-66.

Parameswaran N, Patial S. Tumor necrosis factor- α signaling in macrophages. *Crit Rev Eukaryot Gene Expr*. 2010;20(2):87-103.

Parton RG, Simons K. The multiple faces of caveolae. *Nat Rev Mol Cell Biol*. 2007;8:185-94.

Pasparakis M, Luedde T, Schmidt-Supprian M. Dissection of the NF-kappaB signalling cascade in transgenic and knockout mice. *Cell Death Differ*. 2006;13:861-72. .

Paxinos G, Watson C. *The rat brain in stereotaxic coordinates*. North Ryde, New South Wales, Australia: Academic; 1986.

Peng M, Huang Z, Xie, et al. Partial inhibition of Na⁺/K⁺-ATPase by ouabain induces the Ca²⁺- dependent expression of early-response genes in cardiac myocytes. *J Biol Chem*. 1996;271:10372-8.

Perkins ND. Integrating cell-signalling pathways with NF-kappaB and IKK function. *Nat Rev Mol Cell Biol*. 2007;8:49-62.

Perkins ND. Post-translational modifications regulating the activity and function of the nuclear factor kB pathway. *Oncogene*. 2006;25:6717-30.

Peterson GL, Ewing RD, Conte FP. Membrane differentiation and de Nova synthesis of the (Na²⁺ k⁺)-activated adenosine triphosphatase during development of *Artemia salina* nauplii. *Dev Biol*. 1978;67(1):90-8.

Pinson KI, Brennan J, Monkley S, Avery BJ, Skarnes WC. An LDL-receptor-related protein mediates Wnt signalling in mice. *Nature*. 2000;407(6803):535-8.

Pressley TA. Structure and Function of the Na, K pump: ten years of molecular biology. *Miner Electrolyte Metabol*. 1996;22:264.

Riegel RE, Valvassori SS, Elias G, Réus GZ, Steckert AV, de Souza B, Petronilho F, Gavioli EC, Dal-Pizzol F, Quevedo J. Animal model of mania induced by ouabain: Evidence of oxidative stress in submitochondrial particles of the rat brain. *Neurochem Int*. 2009;55(7):491-5.

Rodrigues A, Queiróz DBC, Honda L, Silva EJ, Hall SH, Avellar MCW. Activation of Toll-Like Receptor 4 (TLR4) by In Vivo and In Vitro Exposure of Rat Epididymis to Lipopolysaccharide from Escherichia Coli1. *Biol Reprod*. 2008;79(6):1135-47.

Rong Y, Baudry M. Seizure activity results in a rapid induction of nuclear factor- κ B in adult but not juvenile rat limbic structures. *J Neurochem*. 1996;67:662-8.

Rossi DJ, Oshima T, Attwell D. Glutamate release in severe brain ischaemia is mainly by reversed uptake. *Nature*. 2000;403(6767):316-21.

Ruktanonchal DJ, El-Mallakh RS, Li R, Levy RS. Persistent Hyperactivity Following a Single Intracerebroventricular Dose of Ouabain. *Physiol Behav*. 1998;63(3):403-6.

Sá-Lima L, Kawamoto EM, Lepsch LB, Munhoz CD, Curi R, Scavone C. Ouabain activates NF- κ B through Src-MAP kinase pathway in cerebellar primary cell culture. *J Neurosci*. 2012. In press.

Schatzmann HJ. Herzglykoside als hemmstoffe für den aktiven kalium- und natriumtransport durch die erythrocytenmembran. *Helv Physiol Pharmacol Acta*. 1953;11:346-54.

Schmidt-Ullrich R, Mémet S, Lilienbaum A, Feuillard J, Raphaël M, Israel A. NF- κ B activity in transgenic mice: developmental regulation and tissue specificity. *Development*. 1996;122(7):2117-28.

Schneider R, Wray V, Nimtz M, Lehmann WD, Kirch U, Antolovic R, Schoner W. Bovine adrenals contain, in addition to ouabain, a second inhibitor of the sodium pump. *J Biol Chem*. 1998;273:784-92.

Schoner W. Endogenous cardiac glycosides, a new class of steroid hormones. *Eur J Biochem*. 2002;269:2440-8.

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(2):C509-C36.

Schuetz F, Kumar S, Poronnik P, Adams DJ. Regulation of the voltage-gated K⁺ channels KCNQ2/3 and KCNQ3/5 by serum- and glucocorticoid-regulated kinase-1. *Am J Physiol Cell Physiol*. 2008;295:C73-C80.

Schulze-Osthoff K, Ferrari D, Los M, Wesselborg S, Peter ME. Apoptosis signaling by death receptors. *Eur J Biochem.* 1998;254:439-59.

Sen R, Baltimore D. Multiple nuclear factors interact with the immunoglobulin enhancer sequences. *Cell.* 1986;46:705-16.

Shamraj OI, Lingrel JB. A putative fourth Na⁺,K⁽⁺⁾-ATPase alpha-subunit gene is expressed in testis. *PNAS.* 1994;91(26):12952-6.

Siebenlist U. NF- κ B/I κ B proteins. Their role in cell growth, differentiation and development. *Biochim Biophys Acta.* 1997;1332:7-13.

Simons K, Gerl MJ. Revitalizing membrane rafts: new tools and insights. *Nature.* 2010;11:688-99.

Singh H, Sen R, Baltimore D, Sharp PA. A nuclear factor that binds to a conserved sequence motif in transcriptional control elements of immunoglobulin genes. *Nature.* 1986;319:154-8.

Sopjani M, Alesutan I, Wilmes J, Sopjani MD, Lam RS, Koutsouki E, Jakupi M, Föller M, Lang F. Stimulation of Na⁺/K⁺-ATPase activity and Na⁺ coupled glucose transport by β -catenin. *Biochem Biophys Res Commun.* 2010;402:467-70.

Srinivasan D, Yen JH, Joseph DJ, Friedman W. Cell type-specific interleukin-1 β signaling in the CNS. *J Neurosci.* 2004;24:6482-8.

Sung MH, Salvatore L, De Lorenzi R, Indrawan A, Pasparakis M, Hager GL, Bianchi ME, Agresti A. Sustained oscillations of NF-kappaB produce distinct genome scanning and gene expression profiles. *PLoS One.* 2009;4(9): e7163.

Sweadner KJ. Two molecular forms of (Na⁺K⁺)-stimulated ATPase in brain. Separation, and difference in affinity for strophanthidin. *J Biol Chem.* 1979;254:6060-7.

Tai DJC, Su CC, Ma YL, Lee EHY. SGK1 phosphorylation of I κ B kinase α and p300 up-regulates NF- κ B activity and increases N-methyl-D-aspartate receptor NR2A and NR2B expression. *J Biol Chem.* 2009;284:4073-89.

Tang RH, Zheng XL, Callis TE, Stansfield WE, He J, Baldwin AS, Wang DZ, Selzman CH. Myocardin inhibits cellular proliferation by inhibiting NF-kappaB(p65)-dependent cell cycle progression. *PNAS.* 2008;105(9):3362-7.

Terstappen GC, Gaviraghi G, Caricasole A. The Wnt signaling pathway as a target for the treatment of neurodegenerative disorders. *IDrugs.* 2006;9(1):35-8.

Tetsu O, McCormick F. Beta-catenin regulates expression of cyclin D1 in colon carcinoma cells. *Nature.* 1999;398:422-6.

Tian J, Cai T, Yuan Z, Wang H, Liu L, Haas M, Maksimova E, Huang XY, Xie ZJ. Binding of Src to Na⁺/K⁺-ATPase forms a functional signaling complex. *Mol Biol Cell.* 2006;17(1):317-26.

- Tian J, Gong X, Xie Z. Signal-transducing function of Na⁺-K⁺-ATPase is essential for ouabain's effect on [Ca²⁺]_i in rat cardiac myocytes. *Am J Physiol*. 2001;281:J1899-J907.
- Verkaar F, van der Stelt M, Blankesteyn WM, van der Doelen AA, Zaman GJR. Discovery of Novel Small Molecule Activators of b-Catenin Signaling. *PLoS One*. 2011;6(4):1-7.
- Vicario-Abejón C, Owens D, McKay R, Segal M. Role of neurotrophins in central synapse formation and stabilization. *Nat Rev Neurosci*. 2002;3(12):965-74.
- Vlantis K, Wullaert A, Sasaki Y, Schmidt-Supprian M, Rajewsky K, Roskams T, Pasparakis M. Constitutive IKK2 activation in intestinal epithelial cells induces intestinal tumors in mice. *J Clin Invest*. 2011;121(7):2781-93.
- Waterfield M, Jin W, Reiley W, Zhang M, Sun SC. IκB kinase is an essential component of the Tpl2 signaling pathway. *Mol Cell Biol*. 2004;24:6040-8.
- Wehrli M, Dougan ST, Caldwell K, O'Keefe L, Schwartz S, Vaizel-Ohayon D, Schejter E, Tomlinson A, DiNardo S. Arrow encodes an LDL-receptor-related protein essential for Wingless signalling. *Nature*. 2001;407(6803):527-30.
- Werner SL, Barken D, Hoffmann A. Stimulus specificity of gene expression programs determined by temporal control of IKK activity. *Science*. 2005;309:1857-61.
- Wexler EM, Paucer A, Kornblum HI, Palmer TD, Geschwind DH. Endogenous Wnt signaling maintains neural progenitor cell potency. *Stem Cells*. 2009;27(5):1130-41.
- Widera D, Mikenberg I, Elvers M, Kaltschmidt C, Kaltschmidt B. Tumor necrosis factor α triggers proliferation of adult neural stem cells via IKK/NF-κB signaling. *BMC Neurosci*. 2006;7(64).
- 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 . E. J.Robinson; 1785.
- Wolter KG, Hsu YT, Smith CL, Nechushtan A, Xi XG, Youle RJ. Movement of Bax from the cytosol to mitochondria during apoptosis. *J Cell Biol*. 1997;139:1281-92.
- Wu JP, Kuo JS, Liu YL, Tzeng SF. Tumor necrosis factor-alpha modulates the proliferation of neural progenitors in the subventricular/ventricular zone of adult rat brain. *Neurosci Lett*. 2000;292(3):203-6.
- Xie Z, Askari A. Na(+)/K(+)-ATPase as a signal transducer. *Eur J Biochem*. 2002;269:2434-9.
- Yu HS, Kim SH, Park HG, Kim YS, Ahn YM. Activation of Akt signaling in rat brain by intracerebroventricular injection of ouabain: a rat model for mania. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*. 2010;34(6):888-94.
- Yuan J. Divergence from a dedicated cellular suicide mechanism: exploring the evolution of cell death. *Mol Cell*. 2006;23:1-12.

- Yuan J, Yankner BA. Apoptosis in the nervous system. *Nature*. 2000;407:802-9.
- Yuan Z, Cai T, Tian J, Ivanov AV, Giovannucci DR, Xie Z. Na/K-ATPase tethers phospholipase C and IP3 receptor into a calcium-regulatory complex. *Mol Biol Cell*. 2005;16(9):4034-45.
- Zhang L, Zhang Z, Guo H, Wang Y. Na⁺/K⁺-ATPase-mediated signal transduction and Na⁺/K⁺-ATPase regulation. *Fundam Clin Pharmacol*. 2008;22(6):615-21.
- Zhang S, Malmersjö S, Li J, Ando H, Aizman O, Uhlén P, Mikoshiba K, Aperia A. Distinct Role of the N-Terminal Tail of the Na, K-ATPase Catalytic Subunit as a Signal Transducer. *J Biol Chem*. 2006;281:21954-62. .
- Zhang X, Poo MM. Localized synaptic potentiation by BDNF requires local protein synthesis in the developing axon. *Neuron*. 2002;36(4):675-88.
- Zhong HH, Voll RE, Ghosh S. Phosphorylation of NFκB p65 by PKA stimulates transcriptional activity by promoting a novel bivalent interaction with the coactivator CBP/p300. *Mol Cell*. 1998;1:661-71.
- Zinkel S, Gross A, Yang E. BCL2 family in DNA damage and cell cycle control. *Cell Death Differ*. 2006;13:1351-9.