

УДК 612.13:577.352

**НАТРИЙ-КАЛИЙ-ХЛОРИД-КОТРАНСПОРТ В РЕГУЛЯЦИИ МИОГЕННОГО ТОНУСА СОСУДОВ****Орлов С.Н.<sup>1,2</sup>, Кольцова С.В.<sup>1</sup>, Анфиногенова Я.Д.<sup>3</sup>, Капилевич Л.В.<sup>2,3</sup>, Гусакова С.В.<sup>3</sup>, Смаглий Л.В.<sup>3</sup>, Баскаков М.Б.<sup>3</sup>, Медведев М.А.<sup>3</sup>**<sup>1</sup> *Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, г. Москва*<sup>2</sup> *Национальный исследовательский Томский государственный университет, г. Томск*<sup>3</sup> *Сибирский государственный медицинский университет, г. Томск***РЕЗЮМЕ**

В статье рассматриваются принципы функционирования  $\text{Na}^+, \text{K}^+, 2\text{Cl}^-$ -котранспорта – трансмембранного ионного переносчика, осуществляющего электронейтральный симпорт натрия, калия и хлора, молекулярные механизмы его регуляции и физиологическое значение. Приводятся новые данные о роли универсальной изоформы  $\text{Na}^+, \text{K}^+, 2\text{Cl}^-$ -котранспортера (NKCC1) в регуляции сокращения гладких мышц сосудов, объема клеток и внутриклеточной концентрации хлора.

**КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА:**  $\text{Na}^+, \text{K}^+, 2\text{Cl}^-$ -котранспорт, артериальная гипертензия.

**Введение**

Трансмембранные ионные котранспортеры катионов и хлора (cation-chloride cotransporters – CCC) осуществляют перенос ионов через биологические мембраны как по их электрохимическому градиенту, так и против него. В последнем случае энергией служат градиенты котранспортируемых соединений, созданные за счет работы  $\text{Na}^+, \text{K}^+$ -АТФазы и других ионных насосов. В настоящее время известно более 300 генов, кодирующих эту группу ионных транспортеров, которые организованы в 52 семейства [1]. CCC кодируются генами SLC12-семейства. Данное семейство включает в себя  $\text{Na}^+, \text{Cl}^-$ -котранспорт (NCC), кодируемый единственным геном (*SLC12A3*),  $\text{Na}^+, \text{K}^+, 2\text{Cl}^-$ -котранспорт (NKCC), кодируемый двумя генами: *SLC12A2* (NKCC1) и *SLC12A1* (NKCC2), и  $\text{K}^+, \text{Cl}^-$ -котранспорт (KCC), кодируемый *SLC12A4* (KCC1), *SLC12A5* (KCC2), *SLC12A6* (KCC3) и *SLC12A7* (KCC4). Все эти переносчики осуществляют симпорт анионов  $\text{Cl}^-$  совместно с катионами  $\text{Na}^+$  и (или)  $\text{K}^+$ . В качестве ингибиторов NKCC используют буметанид, фуросемид и родственные им соединения, относящиеся к группе так называемых петлевых диуретиков. Эта группа получила свое название по месту основного действия данных соединений в почках – восходящий отдел петли Генле [2]. Структура генов, мембранная архитектура и фармако-

логия CCC достаточно полно рассмотрены в ряде обзоров [2–4], в статье мы сфокусировали внимание на анализе систем, принимающих участие в регуляции активности NKCC, а также их роли в поддержании водно-солевого гомеостаза и артериального давления (ДА).

**Регуляция активности NKCC**

Регуляция активности NKCC осуществляется различными системами. Исходя из накопленных к настоящему времени данных, можно заключить, что регуляция NKCC вторичными посредниками носит тканеспецифический характер [5, 6]. Так, хелаторы вне- и внутриклеточного кальция, активаторы цАМФ- и цГМФ-зависимых сигнальных систем не оказывали существенного влияния на активность NKCC1 в клетках дистального отдела эпителия почечных канальцев почек собаки (клетки MDCK) [11–13], тогда как в секретирующем эпителии жабр акулы и эпителии воздухопроводящих путей человека наблюдалась активация NKCC1 под действием цАМФ [15]. В то же время в изолированных гладкомышечных клетках (ГМК) аорты крысы увеличение содержания цАМФ, но не цГМФ [10], в ответ на активацию  $\beta$ -адренергических рецепторов и аденилатциклазы ингибировало NKCC1, а повышение  $[\text{Ca}^{2+}]_i$  как реакция на добавление ионофора увеличивало активность этого переносчика [7–9]. Известно, что высвобождение диацилглицерола в ответ на активацию рецепторов, сопряженных с ГТФ-связывающи-

✉ Орлов Сергей Николаевич, e-mail: sergeinorlov@yandex.ru

ми белками, сопровождается увеличением активности протеинкиназы С. Было показано, что активация протеинкиназы С фторболовым эфиром полностью ингибирует этот переносчик в клетках MDCK [11–13], но не влияет на NKCC1 в ГМК [6]. На основании этих данных можно предположить, что классические вторичные посредники, такие как цАМФ, цГМФ,  $Ca^{2+}$ , диацилглицерол, модулируют активность NKCC скорее не за счет прямого взаимодействия с ним, а посредством вовлечения тканеспецифических элементов сигнальных каскадов, к которым относятся протеинкиназы фосфопротеин фосфатазы [4].

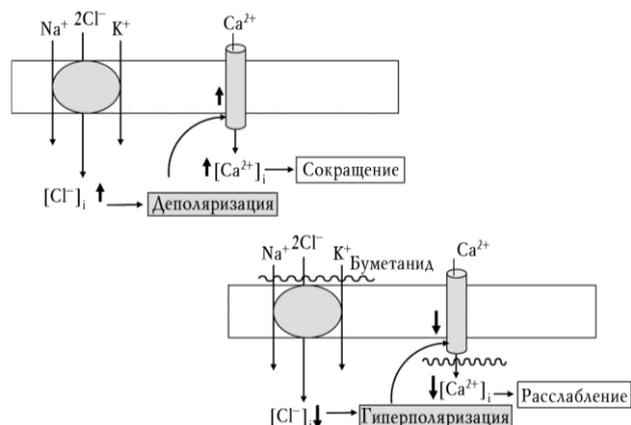
### Физиологическое значение

ССС генерируют как входящие, так и выходящие потоки ионов, направление которых зависит от стехиометрии переноса и трансмембранного градиента котранспортируемых ионов, создаваемых  $Na^+, K^+$ -АТФазой. Для NKCC, работающего со стехиометрией  $1Na^+:1K^+:2Cl^-$ , установлена зависимость величины ионных потоков от концентрации котранспортируемых ионов. Так как  $[Na^+]_o \gg [Na^+]_i$ ,  $[K^+]_i \gg [K^+]_o$ , а  $[Cl^-]_o > [Cl^-]_i$ , нетто-потоки, генерируемые NCC и KCC, направлены в клетку и из клетки, соответственно.

Данный анализ позволяет предположить, что NKCC может принимать участие в регуляции  $[Cl^-]_i$ , однако не оказывает существенного влияния на внутриклеточную концентрацию одновалентных катионов вследствие высокой активности  $Na^+, K^+$ -насоса. Так, ингибирование NKCC в различных клетках сопровождается уменьшением  $[Cl^-]_i$  [16]. Важно отметить, что в зависимости от относительной активности переносчика  $[Cl^-]_i$  может быть как выше, так и ниже параметра, соответствующего равновесному потенциалу Нернста. Это означает, что в клетках, обогащенных анионными каналами, NCC может принимать участие в формировании электрического потенциала, а следовательно, влиять на весь спектр клеточных функций, контролируемых потенциал-чувствительными белками, локализованными в плазматической мембране клеток.

В ГМК значения проводимости плазматической мембраны для  $K^+$  ( $P_K$ ) и  $Cl^-$  ( $P_{Cl}$ ) в формировании электрического сопротивления и потенциала  $E_m$  покоящихся клеток различаются незначительно [17]. В связи с этим непосредственное участие в регуляции  $E_m$ , а также в сопряжении возбуждения и сокращения ГМК принимает NKCC, регулирующий соотношение  $[Cl^-]_i/[Cl^-]_o$ . В самом деле, фуросемид и буметанид уменьшали  $[Cl^-]_i$  [17, 18] и вызывали гиперполяризацию ГМК сосудов крысы [19]. Эти данные позволили предположить, что в основе снижения базального то-

нуса ГМК, обнаруженного при действии петлевых диуретиков [19–21], а также подавления этими соединениями сокращения полосок гладкой мускулатуры в ответ на умеренное увеличение  $[K^+]_o$  [22], электрическую стимуляцию [23], добавление гистамина [24], ангиотензина II [25], тробмоксана  $A_2$  [26, 27], окситацина [28, 29], агонистов  $\alpha$ -адренергических [30–32] и пуринергических рецепторов [33] лежит  $Cl^-$ -зависимая гиперполяризация и снижение активности потенциал-зависимых  $Ca^{2+}$ -каналов L-типа (рисунок).



Механизм вовлечения универсальной изоформы  $Na^+, K^+, 2Cl^-$  котранспорта (NKCC1) в регуляцию сокращения клеток гладкой мускулатуры. NKCC1 способствует увеличению  $[Cl^-]_i$ , деполаризации ГМК, сарколема которых обогащена анионными каналами, открытию потенциал-зависимых  $Ca^{2+}$  каналов и сокращению. Добавление буметанида и других петлевых диуретиков, ингибирующих NKCC1, приводит к уменьшению  $[Cl^-]_i$ , гиперполяризации, закрытию потенциал-зависимых  $Ca^{2+}$  каналов и расслаблению ГМК

Миогенный тонус (ответ) представляет собой уникальное свойство сосудов с диаметром менее 100–200 мкм: вслед за незначительным увеличением диаметра в ответ на прирост давления заполняющей их жидкости радиус таких сосудов существенно уменьшается. Миогенный ответ играет центральную роль в поддержании постоянства движения крови в пределах микроциркуляторного русла независимо от колебаний системного АД [34–36]. Было установлено уменьшение миогенного тонуса брызжеечных артерий [37] под действием буметанида, при этом наблюдалось полное отсутствие миогенного ответа афферентных артериол почек [26]. В нашей лаборатории было обнаружено, что ингибирующее действие буметанида, но не ингибитора потенциал-зависимых  $Ca^{2+}$ -каналов L-типа никардипина, на миогенный тонус, а также сокращение в ответ на  $\alpha$ -адренергическую стимуляцию отсутствуют в брызжеечных артериях, изолированных NKCC1<sup>-/-</sup> мышей [36]. Учитывая отсутствие NKCC2 в ГМК, можно утверждать, что буметанид и другие петлевые диуретики подавляют сокращение и миогенный

ответ ГМК сосудов через взаимодействие с универсальной изоформой  $\text{Na}^+, \text{K}^+, 2\text{Cl}^-$  котранспорта NKCC1.

Клетки животных, благодаря системам *regulatory volume increase (RVI)* и *regulatory volume decrease (RVD)*, обеспечивающим входящий и выходящий поток осмолитиков, поддерживают свой объем с точностью 1–2% [37, 38]. В нашей лаборатории было доказано, что RVI в ответ на гиперосмотическое набухание ГМК сосудов опосредован активацией NKCC [9]. Сравнительно недавно нами было установлено, что на фоне действия ингибитора  $\text{Na}^+, \text{K}^+$ -АТФазы убаина добавление буметанида приводило к примерно двухкратному увеличению объема фибробластов легких [39]. Это наблюдение означает, что при диссипации градиентов одновалентных ионов создается существенный выходящий нетто-поток ионов, опосредованный NKCC1. Функциональные последствия нарушения регуляции клеточного объема рассмотрены в ряде обзоров [37–39].

### Роль в патогенезе артериальной гипертензии

У 25% взрослого населения прослеживается повышение системного АД крови, что является основным фактором риска осложнений, обуславливающих преждевременную инвалидизацию и смертность, включая инсульт, сердечную недостаточность, болезнь почек [41]. Повышение системного АД может быть вызвано увеличением периферического сопротивления системы кровообращения, частоты сердечного выброса и объема внеклеточной жидкости, который определяется работой почек [42].

Гипертензии, обусловленные опухолями надпочечников и почечной недостаточностью, а также моногенные гипертензии, вызванные мутацией единичного гена, получили название вторичной гипертензии. На долю этих болезней приходится менее 5%. В подавляющем же большинстве случаев гипертонической болезни причины повышения АД остаются неизвестны [43].

Изученные к настоящему времени моногенные формы гипертензии объясняются мутациями генов, вовлеченных в регуляцию объема внеклеточной жидкости клетками эпителия почечных канальцев [44, 45]. Среди этих моногенных болезней с функционированием NKCC связана инактивирующая мутация NKCC2, отмеченная у больных синдромом Бартера первого типа. Наличие этой мутации приводит к снижению реабсорбции солей в восходящем отделе петли Генле и в дистальном отделе нефрона, что, в свою очередь, приводит к снижению объема внеклеточной жидкости и уменьшению системного АД [46, 47]. Данное заболевание сопровождается гипокальемией и

алкалоидозом, что является универсальным маркером сниженной реабсорбции соли в этих отделах нефрона.

Наиболее адекватный объект для исследований патогенеза первичной гипертензии – крысы со спонтанной генетической гипертензией (*Spontaneously hypertensive rats, SHR and Milan hypertensive strain, MHS*), являющиеся моделью гипертонической болезни человека. В проведенных на данной модели исследованиях было установлено, что в случае эритроцитов увеличение проницаемости для одновалентных катионов плазматической мембраны у крыс SHR и MHS обусловлено повышением активности NKCC [48, 49].

Так как NKCC1 – единственная изоформа  $\text{Na}^+, \text{K}^+, 2\text{Cl}^-$ -котранспорта, идентифицированная в эритроцитах и ГМК, приведенные выше данные свидетельствуют о том, что у животных, являющихся экспериментальной моделью гипертонической болезни человека, повышение активности этого переносчика способствует активации сервомеханизмов, приводящих к долгосрочному повышению АД. В связи с этим возник вопрос о механизме вовлечения этого переносчика в регуляцию системного АД. Представленные в предыдущих разделах данные указывают на то, что таким механизмом может быть участие NKCC1 в сокращении ГМК и активности симпатической нервной системы, опосредованное регуляцией  $[\text{Cl}^-]_{in}$ . Систематические исследования активности NKCC в ГМК при первичной гипертензии до сих пор не проведены.

В то же время обнаружено увеличение содержания мРНК и белка NKCC1 в аорте, сердце, нейронах паравентрикулярных ядер (ПВЯ) гипоталамуса крыс со спонтанной гипертензией [50]. Повышенная экспрессия этого переносчика в аорте и сердце крыс SHR сопровождается снижением метилирования промотора гена *NKCC1* [50]. С другой стороны, степень метилирования *NKCC1* промотора у нормотензивных животных с возрастом увеличивалась, но не изменялась у гипертонических животных [51]. Также установлено, что активность ДНК метилтрансферазы 3В (DNТВ3В) в 3 раза выше у 18-недельных нормотензивных крыс по сравнению с SHR того же возраста. Эти исследования предполагают, что при экспериментальной модели первичной гипертензии гипометилирование *NKCC1* промотора является следствием снижения активности DNТВ3В, что, в свою очередь, приводит к повышению экспрессии NKCC1, увеличению  $[\text{Cl}^-]_i$ , деполяризации ГМК, увеличению сосудистого тонуса и системного АД [52].

Наряду с изменениями ион-транспортирующих систем почек и сосудов первичный фактор патогенеза гипертонической болезни – нарушение функционирования центральной нервной системы, что приводит

к активации симпатической нервной системы (СНС) и к долгосрочному поддержанию повышенного артериального давления через ее воздействие на сердечно-сосудистую систему и почки [53–56]. Эта гипотеза согласуется с многочисленными данными об активации СНС как у больных гипертонической болезнью [53], так и у крыс SHR [57], а также с установлением центральной роли в активации СНС ПВЯ гипоталамуса [58], гиперактивность которых при первичной гипертензии хорошо документирована [59, 60]. Роль эпигенетических факторов в повышении экспрессии НКСС1 в нейронах ПВЯ SHR, регулирующей активность СНС, остается неисследованной. Было обнаружено, однако, что в этих клетках увеличено гликозилирование НКСС1 [52], это, по-видимому, способствует увеличению содержания мембранно-связанного белка, а именно той его фракции, которая принимает участие в транспорте одновалентных ионов.

Механизмы активации НКСС1 негеномными системами (вторичные посредники и киназы) при первичной гипертензии также остаются мало изученными. Так, например, активация данного переносчика в ГМК наблюдается при увеличении  $[Ca^{2+}]_i$ , в то время как сАМР ингибирует его активность [7, 29, 48]. Кроме того, были обнаружены нарушения как в  $Ca^{2+}$ -зависимой, так и в сАМР-зависимой при первичной гипертензии [49, 51]. Регуляция активности НКСС1, НКСС2 киназами WNK, SPAK и OSR1 рассмотрена нами выше. Однако следует отметить, что в отличие от моногенных гипертензий мутаций генов НКСС и регуляторного каскада WNK/SPAK/OSR1 при первичной гипертензии не обнаружено.

## Заключение

На основании рассмотренных в обзоре данных можно заключить, что основными функциями НКСС являются транспорт одновалентных ионов, регуляция внутриклеточной концентрации хлора и объема клеток. В клетках гладкой мускулатуры основное участие в регуляции  $[Cl^-]_i$  выполняет НКСС1, тогда как в клетках эпителия почечных канальцев реабсорбция соли и осмотически связанной воды осуществляется НКСС2. Регуляция активности НКСС при действии различных стимулов, включая изменения объема клеток, выполняется серин-треониновыми киназами WNK, SPAK и OSR1. Прямое влияния канонических протеинкиназ, активируемых цАМФ, цГМФ, диациллицером и  $Ca^{2+}$ , на фосфорилирование НКСС не обнаружено. Изменение работы НКСС тесно связано с проявлениями артериальной гипертензии различных типов. Так, следствием активации и ингибирования в клетках эпителия почечных канальцев НКСС2 являет-

ся повышение и понижение давления при моногенных болезнях. При первичной гипертензии выявлена активация НКСС1 в клетках гладкой мускулатуры резистентных сосудов, что приводит к увеличению периферического сопротивления системы большого круга кровообращения. Эти изменения опосредованы увеличением  $[Cl^-]_i$  и деполяризацией плазматической мембраны. Фармакологическая регуляция АД возможна при использовании петлевых диуретиков, одним из которых является фуросемид. Эти препараты снижают системное АД за счет ингибирования НКСС2 в восходящем отделе петли Генле и НКСС1 в ГМК резистентных сосудов. Однако эти же соединения подавляют миогенный ответ ГМК микроциркуляторного русла почек и головного мозга, увеличивая тем самым риск возникновения почечных и церебральных осложнений.

*Работа поддержана грантами Канадского института исследований в области здравоохранения (MOP-81392), Обществ по изучению сердца и почек Канады, Российским фондом фундаментальных исследований (09-0073/04), Федеральной целевой программой «Научно-исследовательские кадры инновационной России» на 2009–2013 годы.*

## Литература

1. Hediger M.A., Romero M.F., Peng J.-B., Rolfs A., Takanaga H., Bruford E.A. The ABCs of solute carriers: physiological, pathophysiological and therapeutic implications of human membrane transport protein // Pflugers Arch.- Eur. J. Physiol. 2004. № 447. P. 465–468.
2. Gamba G. Molecular physiology and pathophysiology of electroneutral cation-chloride cotransporters // Physiol. Rev. 2005. № 85. P. 423–493.
3. Orlov S.N., Mongin A.A. Salt sensing mechanisms in blood pressure regulation and hypertension // Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol. 2007. № 293. P. H2039–H2053.
4. Markadieu N., Delpire E. Physiology and pathophysiology of SLC12A1/2 transporters // Pflugers Arch.- Eur. J. Physiol. 2014. № 466. P. 91–105.
5. Lang F., Voelkl J. Therapeutic potential of serum and glucocorticoid inducible kinase inhibition // Expert Opin. Investig. Drugs. 2013. № 22. P. 701–714.
6. Gagnon F., Hamet P., Orlov S.N.  $Na^+K^+$  pump and  $Na^+$ -coupled ion carriers in isolated mammalian kidney epithelial cells: regulation by protein kinase C // Can. J. Physiol. Pharmacol. 1999. № 77. P. 305–319.
7. Orlov S.N., Resink T.J., Bernhardt J., Buhler F.R.  $Na^+K^+$  pump and  $Na^+K^+$  co-transport in cultured vascular smooth muscle cells from spontaneously hypertensive rats: baseline activity and regulation // J. Hypertens. 1992. № 10. P. 733–740.
8. Smith J.B., Smith L.  $Na^+/K^+/Cl^-$  cotransport in cultured vascular smooth muscle cells: stimulation by angiotensin II and calcium ionophores, inhibition by cyclic AMP and calmodulin antagonists // J. Membrane Biol. 1987. № 99. P. 51–63.
9. Orlov S.N., Tremblay J., Hamet P. Cell volume in vascular

- smooth muscle is regulated by bumetanide-sensitive ion transport // *Am. J. Physiol.* 1996. № 270. P. C1388–C1397.
10. *Adragna N., White R.E., Orlov S.N., Lauf P.K.* K-Cl cotransport in vascular smooth muscle and erythrocytes: possible implication in vasodilation // *Am. J. Physiol.* 2000. № 278. P. C381–C390.
  11. *Gagnon F., Orlov S.N., Tremblay J., Hamet P.* Complete inhibition of Na<sup>+</sup>,K<sup>+</sup>,Cl<sup>-</sup> cotransport in Madin-Darby canine kidney cells by PMA-sensitive protein kinase C // *Biochim. Biophys. Acta.* 1998. № 1369. P. 233–239.
  12. *Gagnon F., Dulin N.O., Tremblay J., Hamet P., Orlov S.N.* ATP-induced inhibition of Na<sup>+</sup>,K<sup>+</sup>,Cl<sup>-</sup> cotransport in Madin-Darby canine kidney cells: lack of involvement of known purinoceptor-coupled signaling pathways // *J. Membrane Biol.* 1999. № 167. P. 193–204.
  13. *Orlov S.N., Dulin N.O., Gagnon F., Gekle M., Douglas J.G., Schwartz J.H., Hamet P.* Purinergic regulation of Na<sup>+</sup>,K<sup>+</sup>,Cl<sup>-</sup> cotransport and MAP kinases is limited to C11-MDCK cells resembling intercalated cells from collecting ducts // *J. Membrane Biol.* 1999. № 172. P. 225–234.
  14. *Lytle C., Forbush III B.* The Na-K-Cl cotransport protein of shark rectal gland. II. Regulation by direct phosphorylation // *J. Biol. Chem.* 1992. № 267. P. 25438–25443.
  15. *Dowd B.F., Forbush B.* PASK (proline-alanine-rich STE20-related kinase), a regulatory kinase of the Na-K-Cl cotransporter (NKCC1) // *J. Biol. Chem.* 2003. № 278. P. 27347–27353.
  16. *Alvarez-Leefmans F.J.* Intracellular chloride regulation // *Cell Physiology Source Book. A molecular Approach.* Academic, San Diego, CA. 2001. P. 301–318.
  17. *Chipperfield A.R., Harper A.A.* Chloride in smooth muscle // *Prog. Biophys. Mol. Biol.* 2001. № 74. P. 175–221.
  18. *Davis J.P.L., Chipperfield A.R., Harper A.A.* Accumulation of intracellular chloride by (Na-K-Cl) cotransport in rat arterial smooth muscle is enhanced in deoxycorticosterone acetate (DOCA)/salt hypertension // *J. Mol. Cell. Cardiol.* 1993. № 25. P. 233–237.
  19. *Anfinogenova Y.J., Baskakov M.B., Kovalev I.V., Kilin A.A., Dulin N.O., Orlov S.N.* Cell-volume-dependent vascular smooth muscle contraction: role of Na<sup>+</sup>,K<sup>+</sup>,2Cl<sup>-</sup> cotransport, intracellular Cl<sup>-</sup> and L-type Ca<sup>2+</sup> channels // *Pflügers Archiv.* 2004. № 449. P. 42–55.
  20. *Barthelmebs M., Stephan D., Fontaine C., Grima M., Imbs J.L.* Vascular effects of loop diuretics: an *in vivo* and *in vitro* study in the rat // *Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol.* 1994. № 349. P. 209–216.
  21. *Lavallee S.L., Iwamoto L.M., Claybaugh J.R., Dressel M.V., Sato A.K., Nakamura K.T.* Furosemide-induced airway relaxation in guinea pigs: relation to Na-K-2Cl cotransporter function // *Am. J. Physiol.* 1997. № 273. P. L211–L216.
  22. *Tian R., Aalkjaer C., Andreassen F.* Mechanisms behind the relaxing effect of furosemide on the isolated rabbit ear artery // *Pharmacol. Toxicol.* 1990. № 67. P. 406–410.
  23. *Kovalev I.V., Baskakov M.B., Anfinogenova Y.J., Borodin Y.L., Kilin A.A., Minochenko I.L., Popov A.G., Kapilevich L.V., Medvedev M.A., Orlov S.N.* Effect of Na<sup>+</sup>,K<sup>+</sup>,2Cl<sup>-</sup> cotransport inhibitor bumetanide on electrical and contractile activity of smooth muscle cells in guinea pig ureter // *Bull. Exp. Biol. Med.* 2003. № 136 (8). P. 145–149.
  24. *Kovalev I.V., Baskakov M.B., Medvedev M.A., Minochenko I.L., Kilin A.A., Anfinogenova Y.J., Borodin I.V., Guskova S.V., Popov A.G., Kapilevich L.V., Orlov S.N.* Na<sup>+</sup>,K<sup>+</sup>,2Cl<sup>-</sup> cotransport and chloride permeability of the cell membrane in mezaton and histamine regulation of electrical and contractile activity in smooth muscle cells from the guinea pig ureter // *Russian Physiol. J.* 2008. № 93. P. 306–317.
  25. *Stanke-Labesque F., Craciowski J.L., Bedouch P., Chavanon O., Magne J.L., Bessard G., Devillier P.* Furosemide inhibits thromboxane A<sub>2</sub>-induced contraction in isolated human internal artery and saphenous vein // *J. Cardiovasc. Pharmacol.* 2000. № 35. P. 531–537.
  26. *Wang X., Breaks J., Loutzenhiser K., Loutzenhiser R.* Effects of inhibition of the Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>/2Cl<sup>-</sup> cotransporter on myogenic and angiotensin II responses of the rat afferent arteriole // *Am. J. Physiol. Renal Physiol.* 2007. № 292. P. F999–F1006.
  27. *Mozhayeva M.G., Bagrov Y.Y.* The inhibitory effects of furosemide on Ca<sup>2+</sup> influx pathways associated with oxytocin-induced contractions of rat myometrium // *Gen. Physiol. Biophys.* 1995. № 14. P. 427–436.
  28. *Mozhayeva M.G., Bagrov Y.Y., Ostretsova I.B., Gillespie J.I.* The effect of furosemide on oxytocin-induced contractions of the rat myometrium // *Exp. Physiol.* 1994. № 79. P. 661–667.
  29. *Akar F., Skinner E., Klein J.D., Jena M., Paul R.J., O'Neill W.C.* Vasoconstrictors and nitrovasodilators reciprocally regulate the Na<sup>+</sup>-K<sup>+</sup>-2Cl<sup>-</sup> cotransporter in rat aorta // *Am. J. Physiol.* 1999. № 276. P. C1383–C1390.
  30. *Garg P., Martin C., Elms S.C., Gordon F.J., Wall S.M., Garland C.J., Sutliff R.L., O'Neill W.C.* Effect of the Na-K-2Cl cotransporter NKCC1 on systematic blood pressure and smooth muscle tone // *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* 2007. № 292. P. H2100–H2105.
  31. *Palacios J., Espinoza F., Munita C., Cifuentes F., Michea L.* Na<sup>+</sup>-K<sup>+</sup>-2Cl<sup>-</sup> cotransporter is implicated in gender differences in the response of the rat aorta to phenylephrine // *Br. J. Pharmacol.* 2006. № 148. P. 964–972.
  32. *Koltsova S.V., Maximov G.V., Kotelevtsev S.V., Lavoie J.L., Tremblay J., Grygorczyk R., Hamet P., Orlov S.N.* Myogenic tone in mouse mesenteric arteries: evidence for P2Y receptor-mediated, Na<sup>+</sup>,K<sup>+</sup>,2Cl<sup>-</sup> cotransport-dependent signaling // *Purinergic Signaling.* 2009. № 5. P. 343–349.
  33. *Davis M.J., Hill M.A.* Signaling mechanisms underlying the vascular myogenic response // *Physiol. Rev.* 2009. № 79. P. 387–423.
  34. *Hill M.A., Davis M.J., Meininger G.A., Potocnik S.J., Murphy T.V.* Arteriolar myogenic signaling mechanisms: implications for local vascular functions // *Clin. Hemorheol. Microcirc.* 2006. № 34. P. 67–79.
  35. *Schubert R., Mulvany M.J.* The myogenic response: established facts and attractive hypothesis // *Clin. Sci.* 1999. № 96. P. 313–326.
  36. *Koltsova S.V., Kotelevtsev S.V., Tremblay J., Hamet P., Orlov S.N.* Excitation-contraction coupling in resistant mesenteric arteries: evidence for NKCC1-mediated pathway // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2009. № 379. P. 1080–1083.
  37. *Lang F., Busch G., Ritter M., Volkl H., Waldegger S., Gulbins E., Haussinger D.* Functional significance of cell volume regulatory mechanisms // *Physiol. Rev.* 1998. № 78. P. 247–306.
  38. *Mongin A.A., Orlov S.N.* Mechanisms of cell volume regulation and possible nature of the cell volume sensor // *Pathophysiology.* 2001. № 8. P. 77–88.
  39. *Koltsova S.V., Akimova O.A., Orlov S.N., Dulin N.O.* Both Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup> pump and Na<sup>+</sup>,K<sup>+</sup>,2Cl<sup>-</sup> cotransport contribute to cell volume control in human lung fibroblasts // *Бюл. сиб. медицины.* 2013. vol. 12. № 4. P. 42.
  40. *Hoffmann E.K., Lambert I.H., Pedersen S.F.* Physiology of cell volume regulation in vertebrates // *Physiol. Rev.* 2009. № 89. P. 193–277.
  41. *Orlov S.N., Platonova A.A., Hamet P., Grygorczyk R.* Cell volume and monovalent ion transporters: their role in the

- triggering and progression of the cell death machinery // *Am. J. Physiol. Cell Physiol.* 2013. № 305. P. C361–C372.
42. O'Shaughnessy K.M., Karet F.E. Salt handling in hypertension // *Annu. Rev. Nutr.* 2006. № 26. P. 343–365.
43. Guyton A.C. Arterial pressure and hypertension. Philadelphia, WB Saunders Co, 1980.
44. Postnov Y.V., Orlov S.N. Primary hypertension as a cell membrane pathology. М.: Медицина, 1987.
45. Lifton R.P., Gharavi A.G., Geller D.S. Molecular mechanisms of human hypertension // *Cell.* 2001. № 104. P. 545–556.
46. Lifton R.P. Genetic dissection of human blood pressure variation: common pathways from rare phenotypes // *Harvey Lect.* 2005. № 100. P. 71–101.
47. Simon D.B., Karet F.E., Hamdan J.M., Di Pietro A., Sanjad S.A., Lifton R.P. Bartter's syndrome, hypokalemic alkalosis with hypercalciuria, is caused by mutation of Na-K-2Cl cotransporter NKCC2 // *Nature Genetics.* 1996. № 13. P. 183–188.
48. Simon D.B., Nelson-Williams C., Bia J., Ellison D., Karet F.E., Molina A.M., Vaara I., Iwata F., Cushner M., Koolen M., Gainza F.J., Gitelman H.J., Lifton R.P. Gitelman's variant of Bartter's syndrome, inherited hypokalemic alkalosis, is caused by mutations in the thiazide-sensitive Na-Cl cotransporter // *Nature Genetics.* 1996. № 12. P. 24–30.
49. Jones A.W. Altered ion transport in vascular smooth muscle from spontaneously hypertensive rats. Influence of aldosterone, norepinephrine and angiotensin // *Circ. Res.* 1973. № 33. P. 563–572.
50. Postnov Yu.V., Orlov S.N., Shevchenko A.S., Adler A.M. Altered sodium permeability, calcium binding and Na-K-ATPase activity in the red blood cell membrane in essential hypertension // *Pflugers Archiv.* 1977. № 371. P. 263–269.
51. Lee H.-A., Baek I., Seok Y.M., Yang E., Cho H.-M., Lee D.-Y., Hong S.H., Kim I.K. Promoter hypomethylation upregulates Na<sup>+</sup>-K<sup>+</sup>-2Cl<sup>-</sup> cotransporter 1 in spontaneously hypertensive rats // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2010. № 396. P. 252–257.
52. Cho H.-M., Lee H.-A., Kim H.Y., Han H.S., Kim I.K. Expression of Na<sup>+</sup>-K<sup>+</sup>-2Cl<sup>-</sup> cotransporter is epigenetically regulated during postnatal development of hypertension // *Am. J. Hypertens.* 2011. № 12. P. 1286–1293.
53. Ye Z.-Y., Li D.-P., Byun H.S., Li L., Pan H.-L. NKCC1 upregulation disrupts chloride homeostasis in the hypothalamus and increases neuronal-sympathetic drive in hypertension // *J. Neurosci.* 2012. № 32. P. 8560–8568.
54. Mancina G., Grassi G., Giannattasio C., Seravalle G. Sympathetic activation in the pathogenesis of hypertension and progression of organ damage // *Hypertension.* 1999. № 34. P. 724–728.
55. Schlaich M.P., Lambert E., Kaye D.M., Krozowski Z., Campbell D.J., Lambert G., Hastings J., Aggarwal A., Essler M.D. Sympathetic augmentation in hypertension: role of nerve firing, norepinephrine reuptake, and angiotensin neuromodulation // *Hypertension.* 2004. № 43. P. 169–175.
56. Huang B.S., Amin M.S., Leenen F.H.H. The central role of the brain in salt-sensitive hypertension // *Curr. Opin. Cardiol.* 2006. № 21. P. 295–394.
57. Leenen F.H.H. The central role of the brain aldosterone-"ouabain" pathway in salt-sensitive hypertension // *Biochim. Biophys. Acta.* 2010. № 1802. P. 1132–1139.
58. Judy W.V., Watanabe A.M., Henry P.D., Besch H.R., Murphy W.R., Hockel G.M. Sympathetic nerve activity: role in regulation of blood pressure in the spontaneously hypertensive rats // *Circ. Res.* 1976. № 38. P. 21–29.
59. Pyner S., Coote J.H. Identification of branching paraventricular neurones of the hypothalamus that project to the rostroventrolateral medulla and spinal cord // *Neurosci.* 2000. № 100. P. 549–556.
60. Allen A.M. Inhibition of the hypothalamic paraventricular nucleus in spontaneous hypertensive rats dramatically reduces sympathetic vasomotor tone // *Hypertension.* 2002. № 39. P. 275–280.

Поступила в редакцию 01.11.2014 г.

Утверждена к печати 12.11.2014 г.

**Орлов Сергей Николаевич** (✉) – д-р биол. наук, профессор биологического факультета МГУ им. М.В. Ломоносова (г. Москва).

**Кольцова Светлана Викторовна** – канд. мед. наук, биологический факультет МГУ им. М.В. Ломоносова (г. Москва).

**Анфиногенова Яна Джоновна** – д-р мед. наук, СибГМУ (г. Томск).

**Капилевич Леонид Владимирович** – д-р мед. наук, профессор, ТГУ (г. Томск).

**Гусакова Светлана Валерьевна** – д-р мед. наук, доцент, зав. кафедрой биофизики и функциональной диагностики СибГМУ (г. Томск).

**Смаглий Людмила Владимировна** – канд. мед. наук, СибГМУ (г. Томск).

**Баскаков Михаил Борисович** – д-р мед. наук, профессор, СибГМУ (г. Томск).

**Медведев Михаил Андреевич** – заслуженный деятель науки РФ, д-р мед. наук, профессор, академик РАН, зав. кафедрой нормальной физиологии СибГМУ (г. Томск).

✉ Орлов Сергей Николаевич, e-mail: sergeinorlov@yandex.ru

## SODIUM-POTASSIUM-CHLORIDE COTRANSPORT IN THE REGULATION OF VASCULAR MYOGENIC TONE

Orlov S.N.<sup>1,2</sup>, Koltsova S.V.<sup>1</sup>, Anfinogenova Ya.D.<sup>3</sup>, Kapilevich L.V.<sup>2,3</sup>, Guskova S.V.<sup>3</sup>, Smaglyi L.V.<sup>3</sup>, **Baskakov M.B.**<sup>3</sup>, Medvedev M.A.<sup>3</sup>

<sup>1</sup> M.V. Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russian Federation

<sup>2</sup> National Research Tomsk State University, Tomsk, Russian Federation

<sup>3</sup> Siberian Medical University, Tomsk, Russian Federation

### ABSTRACT

The article discusses the data on the functioning of Na<sup>+</sup>,K<sup>+</sup>,2Cl<sup>-</sup> cotransport – the carrier providing electroneutral symport of sodium, potassium and chloride, as well as molecular mechanisms of the regulation and physiological significance of this carrier. We analyzed the novel data on involvement of ubiquitous isoform of Na<sup>+</sup>,K<sup>+</sup>,2Cl<sup>-</sup> cotransporter (NKCC1) in regulation of vascular smooth muscle contraction, and role of this carrier in the regulation of cell volume and intracellular chloride concentration.

**KEY WORDS:** Na<sup>+</sup>,K<sup>+</sup>,2Cl<sup>-</sup> cotransport, arterial hypertension.

*Bulletin of Siberian Medicine*, 2014, vol. 13, no. 6, pp. 165–173

### References

- Hediger M.A., Romero M.F., Peng J.-B., Rolfs A., Takanaga H., Bruford E.A. The ABCs of solute carriers: physiological, pathophysiological and therapeutic implications of human membrane transport protein. *Pflugers Arch.- Eur. J. Physiol.*, 2004, no. 447, pp. 465–468.
- Gamba G. Molecular physiology and pathophysiology of electroneutral cation-chloride cotransporters. *Physiol. Rev.*, 2005, no. 85, pp. 423–493.
- Orlov S.N., Mongin A.A. Salt sensing mechanisms in blood pressure regulation and hypertension. *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.*, 2007, no. 293, pp. H2039–H2053.
- Markadieu N., Delpire E. Physiology and pathophysiology of SLC12A1/2 transporters. *Pflugers Arch.- Eur. J. Physiol.*, 2014, no. 466, pp. 91–105.
- Lang F., Voelkl J. Therapeutic potential of serum and glucocorticoid inducible kinase inhibition. *Expert Opin. Investig. Drugs*, 2013, no. 22, pp. 701–714.
- Gagnon F., Hamet P., Orlov S.N. Na<sup>+</sup>,K<sup>+</sup> pump and Na<sup>+</sup>-coupled ion carriers in isolated mammalian kidney epithelial cells: regulation by protein kinase C. *Can. J. Physiol. Pharmacol.*, 1999, no. 77, pp. 305–319.
- Orlov S.N., Resink T.J., Bernhardt J., Buhler F.R. Na<sup>+</sup>-K<sup>+</sup> pump and Na<sup>+</sup>-K<sup>+</sup> co-transport in cultured vascular smooth muscle cells from spontaneously hypertensive rats: baseline activity and regulation. *J. Hypertens.*, 1992, no. 10, pp. 733–740.
- Smith J.B., Smith L. Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>/Cl<sup>-</sup> cotransport in cultured vascular smooth muscle cells: stimulation by angiotensin II and calcium ionophores, inhibition by cyclic AMP and calmodulin antagonists. *J. Membrane Biol.*, 1987, no. 99, pp. 51–63.
- Orlov S.N., Tremblay J., Hamet P. Cell volume in vascular smooth muscle is regulated by bumetanide-sensitive ion transport. *Am. J. Physiol.*, 1996, no. 270, pp. C1388–C1397.
- Adragna N., White R.E., Orlov S.N., Lauf P.K. K-Cl cotransport in vascular smooth muscle and erythrocytes: possible implication in vasodilation. *Am. J. Physiol.*, 2000, no. 278, pp. C381–C390.
- Gagnon F., Orlov S.N., Tremblay J., Hamet P. Complete inhibition of Na<sup>+</sup>,K<sup>+</sup>,Cl<sup>-</sup> cotransport in Madin-Darby canine kidney cells by PMA-sensitive protein kinase C. *Biochim. Biophys. Acta*, 1998, no. 1369, pp. 233–239.
- Gagnon F., Dulin N.O., Tremblay J., Hamet P., Orlov S.N. ATP-induced inhibition of Na<sup>+</sup>,K<sup>+</sup>,Cl<sup>-</sup> cotransport in Madin-Darby canine kidney cells: lack of involvement of known purinoceptor-coupled signaling pathways. *J. Membrane Biol.*, 1999, no. 167, pp. 193–204.
- Orlov S.N., Dulin N.O., Gagnon F., Gekle M., Douglas J.G., Schwartz J.H., Hamet P. Purinergic regulation of Na<sup>+</sup>,K<sup>+</sup>,Cl<sup>-</sup> cotransport and MAP kinases is limited to C11-MDCK cells resembling intercalated cells from collecting ducts. *J. Membrane Biol.*, 1999, no. 172, pp. 225–234.
- Lytle C., Forbush III B. The Na-K-Cl cotransport protein of shark rectal gland. II. Regulation by direct phosphorylation. *J. Biol. Chem.*, 1992, no. 267, pp. 25438–25443.
- Dowd B.F., Forbush B. PASK (proline-alanine-rich STE20-related kinase), a regulatory kinase of the Na-K-Cl cotransporter (NKCC1). *J. Biol. Chem.*, 2003, no. 278, pp. 27347–27353.
- Alvarez-Leefmans F.J. Intracellular chloride regulation. In: *Cell Physiology Source Book. A molecular Approach*. Academic, San Diego, CA, 2001. P. 301–318.
- Chipperfield A.R., Harper A.A. Chloride in smooth muscle. *Prog. Biophys. Mol. Biol.*, 2001, no. 74, pp. 175–221.
- Davis J.P.L., Chipperfield A.R., Harper A.A. Accumulation of intracellular chloride by (Na-K-Cl) cotransport in rat arterial smooth muscle is enhanced in deoxycorticosterone acetate (DOCA)/salt hypertension. *J. Mol. Cell. Cardiol.*, 1993, no. 25, pp. 233–237.
- Anfinogenova Y.J., Baskakov M.B., Kovalev I.V., Kilin A.A., Dulin N.O., Orlov S.N. Cell-volume-dependent vascular smooth muscle contraction: role of Na<sup>+</sup>,K<sup>+</sup>,2Cl<sup>-</sup> cotransport, intracellular Cl<sup>-</sup> and L-type Ca<sup>2+</sup> channels. *Pflugers Archiv*, 2004, no. 449, pp. 42–55.

20. Barthelmebs M., Stephan D., Fontaine C., Grima M., Imbs J.L. Vascular effects of loop diuretics: an *in vivo* and *in vitro* study in the rat. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol.*, 1994, no. 349, pp. 209–216.
21. Lavallee S.L., Iwamoto L.M., Claybaugh J.R., Dressel M.V., Sato A.K., Nakamura K.T. Furosemide-induced airway relaxation in guinea pigs: relation to Na-K-2Cl cotransport function. *Am. J. Physiol.*, 1997, no. 273, pp.L211–L216.
22. Tian R., Aalkjaer C., Andreassen F. Mechanisms behind the relaxing effect of furosemide on the isolated rabbit ear artery. *Pharmacol. Toxicol.*, 1990, no. 67, pp. 406–410.
23. Kovalev I.V., Baskakov M.B., Anfinogenova Y.J., Borodin Y.L., Kilin A.A., Minochenko I.L., Popov A.G., Kapilevich L.V., Medvedev M.A., Orlov S.N. Effect of  $\text{Na}^+, \text{K}^+, 2\text{Cl}^-$  cotransport inhibitor bumetanide on electrical and contractile activity of smooth muscle cells in guinea pig ureter. *Bull. Exp. Biol. Med.*, 2003, no. 136 (8), pp. 145–149.
24. Kovalev I.V., Baskakov M.B., Medvedev M.A., Minochenko I.L., Kilin A.A., Anfinogenova Y.J., Borodin I.V., Gusakova S.V., Popov A.G., Kapilevich L.V., Orlov S.N.  $\text{Na}^+, \text{K}^+, 2\text{Cl}^-$  cotransport and chloride permeability of the cell membrane in mezaton and histamine regulation of electrical and contractile activity in smooth muscle cells from the guinea pig ureter. *Russian Physiol. J.*, 2008, no. 93, pp. 306–317.
25. Stanke-Labesque F., Craciowski J.L., Bedouch P., Chavanon O., Magne J.L., Bessard G., Devillier P. Furosemide inhibits thromboxane A<sub>2</sub>-induced contraction in isolated human internal artery and saphenous vein. *J. Cardiovasc. Pharmacol.*, 2000, no. 35, pp. 531–537.
26. Wang X., Breaks J., Loutzenhiser K., Loutzenhiser R. Effects of inhibition of the  $\text{Na}^+/\text{K}^+/\text{2Cl}^-$  cotransporter on myogenic and angiotensin II responses of the rat afferent arteriole. *Am. J. Physiol. Renal Physiol.*, 2007, no. 292, pp. F999–F1006.
27. Mozhayeva M.G., Bagrov Y.Y. The inhibitory effects of furosemide on  $\text{Ca}^{2+}$  influx pathways associated with oxytocin-induced contractions of rat myometrium. *Gen. Physiol. Biophys.*, 1995, no. 14, pp. 427–436.
28. Mozhayeva M.G., Bagrov Y.Y., Ostretsova I.B., Gillespie J.I. The effect of furosemide on oxytocin-induced contractions of the rat myometrium. *Exp. Physiol.*, 1994, no. 79, pp. 661–667.
29. Akar F., Skinner E., Klein J.D., Jena M., Paul R.J., O'Neill W.C. Vasoconstrictors and nitrovasodilators reciprocally regulate the  $\text{Na}^+/\text{K}^+/\text{2Cl}^-$  cotransporter in rat aorta. *Am. J. Physiol.*, 1999, no. 276, pp. C1383–C1390.
30. Garg P., Martin C., Elms S.C., Gordon F.J., Wall S.M., Garland C.J., Sutliff R.L., O'Neill W.C. Effect of the  $\text{Na}^+/\text{K}^+/\text{2Cl}^-$  cotransporter NKCC1 on systematic blood pressure and smooth muscle tone. *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.*, 2007, no. 292, pp. H2100–H2105.
31. Palacios J., Espinoza F., Munita C., Cifuentes F., Michea L.  $\text{Na}^+/\text{K}^+/\text{2Cl}^-$  cotransporter is implicated in gender differences in the response of the rat aorta to phenylephrine. *Br. J. Pharmacol.*, 2006, no. 148, pp. 964–972.
32. Koltsova S.V., Maximov G.V., Kotelevtsev S.V., Lavoie J.L., Tremblay J., Grygorczyk R., Hamet P., Orlov S.N. Myogenic tone in mouse mesenteric arteries: evidence for P2Y receptor-mediated,  $\text{Na}^+, \text{K}^+, 2\text{Cl}^-$  cotransport-dependent signaling. *Purinergic Signaling*, 2009, no. 5, pp. 343–349.
33. Davis M.J., Hill M.A. Signaling mechanisms underlying the vascular myogenic response. *Physiol. Rev.*, 2009, no. 79, pp. 387–423.
34. Hill M.A., Davis M.J., Meininger G.A., Potocnik S.J., Murphy T.V. Arteriolar myogenic signaling mechanisms: implications for local vascular functions. *Clin. Hemorheol. Microcirc.*, 2006, no. 34, pp. 67–79.
35. Schubert R., Mulvany M.J. The myogenic response: established facts and attractive hypothesis. *Clin. Sci.*, 1999, no. 96, pp. 313–326.
36. Koltsova S.V., Kotelevtsev S.V., Tremblay J., Hamet P., Orlov S.N. Excitation-contraction coupling in resistant mesenteric arteries: evidence for NKCC1-mediated pathway. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 2009, no. 379, pp. 1080–1083.
37. Lang F., Busch G., Ritter M., Volkl H., Waldegger S., Gulbins E., Haussinger D. Functional significance of cell volume regulatory mechanisms. *Physiol. Rev.*, 1998, no. 78, pp. 247–306.
38. Mongin A.A., Orlov S.N. Mechanisms of cell volume regulation and possible nature of the cell volume sensor. *Pathophysiology*, 2001, no. 8, pp. 77–88.
39. Koltsova S.V., Akimova O.A., Orlov S.N., Dulin N.O. Both  $\text{Na}^+/\text{K}^+$  pump and  $\text{Na}^+, \text{K}^+, 2\text{Cl}^-$  cotransport contribute to cell volume control in human lung fibroblasts. *Byulleten' sibirskoy meditsiny – Bulletin of Siberian Medicine*, 2013, vol. 12, no. 4, p. 42.
40. Hoffmann E.K., Lambert I.H., Pedersen S.F. Physiology of cell volume regulation in vertebrates. *Physiol. Rev.*, 2009, no. 89, pp. 193–277.
41. Orlov S.N., Platonova A.A., Hamet P., Grygorczyk R. Cell volume and monovalent ion transporters: their role in the triggering and progression of the cell death machinery. *Am. J. Physiol. Cell Physiol.*, 2013, no. 305, pp. C361–C372.
42. O'Shaughnessy K.M., Karet F.E. Salt handling in hypertension. *Annu. Rev. Nutr.*, 2006, no. 26, pp. 343–365.
43. Guyton A.C. *Arterial pressure and hypertension*. Philadelphia, WB Saunders Co, 1980.
44. Postnov Y.V., Orlov S.N. *Primary hypertension as a cell membrane pathology*. Moscow, Meditsina Publ., 1987.
45. Lifton R.P., Gharavi A.G., Geller D.S. Molecular mechanisms of human hypertension. *Cell*, 2001, no. 104, pp. 545–556.
46. Lifton R.P. Genetic dissection of human blood pressure variation: common pathways from rare phenotypes. *Harvey Lect.*, 2005, no. 100, pp. 71–101.
47. Simon D.B., Karet F.E., Hamdan J.M., Di Pietro A., Sanjad S.A., Lifton R.P. Bartter's syndrome, hypokalemic alkalosis with hypercalciuria, is caused by mutation of  $\text{Na}^+/\text{K}^+/\text{2Cl}^-$  cotransporter NKCC2. *Nature Genetics*, 1996, no. 13, pp. 183–188.
48. Simon D.B., Nelson-Williams C., Bia J., Ellison D., Karet F.E., Molina A.M., Vaara I., Iwata F., Cushner M., Koolen M., Gainza F.J., Gitelman H.J., Lifton R.P. Gitelman's variant of Bartter's syndrome, inherited hypokalemic alkalosis, is caused by mutations in the thiazide-sensitive  $\text{Na}^+/\text{Cl}^-$  cotransporter. *Nature Genetics*, 1996, no. 12, pp. 24–30.
49. Jones A.W. Altered ion transport in vascular smooth muscle from spontaneously hypertensive rats. Influence of aldosterone, norepinephrine and angiotensin. *Circ. Res.*, 1973, no. 33, pp. 563–572.
50. Postnov Yu.V., Orlov S.N., Shevchenko A.S., Adler A.M. Altered sodium permeability, calcium binding and  $\text{Na}^+/\text{K}^+/\text{ATPase}$  activity in the red blood cell membrane in essential hypertension. *Pflugers Archiv*, 1977, no. 371, pp. 263–269.
51. Lee H.-A., Baek I., Seok Y.M., Yang E., Cho H.-M., Lee D.-Y., Hong S.H., Kim I.K. Promoter hypomethylation upregulates  $\text{Na}^+/\text{K}^+/\text{2Cl}^-$  cotransporter 1 in spontaneously hypertensive rats. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 2010, no. 396, pp. 252–257.
52. Cho H.-M., Lee H.-A., Kim H.Y., Han H.S., Kim I.K. Expression of  $\text{Na}^+, \text{K}^+/\text{2Cl}^-$  cotransporter is epigenetically regulated during postnatal development of hypertension. *Am. J. Hypertens.*, 2011, no. 12, pp. 1286–1293.

53. Ye Z.-Y., Li D.-P., Byun H.S., Li L., Pan H.-L. NKCC1 upregulation disrupts chloride homeostasis in the hypothalamus and increases neuronal-sympathetic drive in hypertension. *J. Neurosci.*, 2012, no. 32, pp. 8560–8568.
54. Mancia G., Grassi G., Giannattasio C., Seravalle G. Sympathetic activation in the pathogenesis of hypertension and progression of organ damage. *Hypertension*, 1999, no. 34, pp. 724–728.
55. Schlaich M.P., Lambert E., Kaye D.M., Krozowski Z., Campbell D.J., Lambert G., Hastings J., Aggarwal A., Esler M.D. Sympathetic augmentation in hypertension: role of nerve firing, norepinephrine reuptake, and angiotensin neuromodulation. *Hypertension*, 2004, no. 43, pp. 169–175.
56. Huang B.S., Amin M.S., Leenen F.H.H. The central role of the brain in salt-sensitive hypertension. *Curr. Opin. Cardiol.*, 2006, no. 21, pp. 295–394.
57. Leenen F.H.H. The central role of the brain aldosterone-"ouabain" pathway in salt-sensitive hypertension. *Biochim. Biophys. Acta*, 2010, no. 1802, pp. 1132–1139.
58. Judy W.V., Watanabe A.M., Henry P.D., Besch H.R., Murphy W.R., Hockel G.M. Sympathetic nerve activity: role in regulation of blood pressure in the spontaneously hypertensive rats. *Circ. Res.*, 1976, no. 38, pp. 21–29.
59. Pynner S., Coote J.H. Identification of branching paraventricular neurones of the hypothalamus that project to the rostroventrolateral medulla and spinal cord. *Neurosci.*, 2000, no. 100, pp. 549–556.
60. Allen A.M. Inhibition of the hypothalamic paraventricular nucleus in spontaneously hypertensive rats dramatically reduces sympathetic vasomotor tone. *Hypertension*, 2002, no. 39, pp. 275–280.

**Orlov S.N.** (✉), M.V. Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russian Federation; National Research Tomsk State University, Tomsk, Russian Federation.

**Koltsova S.V.**, M.V. Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russian Federation.

**Anfinogenova Ya.D.**, Siberian Medical University, Tomsk, Russian Federation.

**Kapilevich L.V.**, National Research Tomsk State University, Tomsk, Russian Federation; Siberian Medical University, Tomsk, Russian Federation.

**Gusakova S.V.**, Siberian Medical University, Tomsk, Russian Federation.

**Smaglyi L.V.**, Siberian Medical University, Tomsk, Russian Federation.

**Baskakov M.B.**, Siberian Medical University, Tomsk, Russian Federation.

**Medvedev M.A.**, Siberian Medical University, Tomsk, Russian Federation.

✉ **Orlov S.N.**, e-mail: sergeinorlov@yandex.ru