

Эндогенные кардиотонические стероиды: клинические перспективы

О.В. Федорова¹, Л.С. Коростовцева², Дж. И. Шапиро², А.Я. Багров^{1*}

¹Национальный институт старения, Национальные институты здоровья, Балтимор, Мериленд, США

²Медицинский колледж Университета Толедо, Толедо, Огайо, США

³Федеральный центр сердца, крови и эндокринологии им. В.А. Алмазова, Санкт-Петербург, Россия

Резюме

В настоящее время выявлено несколько эндогенных кардиотонических стероидов, или дигиталис-подобных факторов, у человека; среди них убаин, относящийся к классу карденолидов, и маринобуфагенин, из класса буфаденолидов, изучены наиболее подробно. Физиологической функцией кардиотонических стероидов является поддержание гомеостаза натрия и регуляция натрийуреза на уровне почек. Эндогенные кардиотонические стероиды, связываясь с Na/K-АТФ-азой, не только ингибируют трансмембранный транспорт моновалентных катионов, а также активируют Src-EGF-опосредованный путь клеточной сигнализации. У крыс линии Dahl с соль-индуцированной артериальной гипертензией эндогенный убаин действует как нейрогормон, стимулируя высвобождение маринобуфагенина, обладающего натрийуретическим и сосудосуживающим свойствами. У ряда больных полиморфизм гена альфа-аддуцина на фоне повышения уровня эндогенного убаина приводит к активации Na/K-АТФ-азы в почечных канальцах и ретенции натрия, что является триггером развития гипертензии. Эндогенные кардиотонические стероиды также вносят вклад в патогенез хронической сердечной недостаточности, преэклампсии и сахарного диабета. Иммунонейтрализация, антагонизм рецепторов кардиотонических стероидов, ингибирование протеин-киназы C и активация протеин-киназы G являются потенциальными подходами к фармакологическому антагонизму нежелательных эффектов кардиотонических стероидов.

Ключевые слова: эндогенные кардиотонические стероиды, соль-индуцированная гипертензия, Na/K-АТФ-аза.

Endogenous cardiotonic steroids: clinical perspectives

O.V. Fedorova, L.S. Korostovtseva, J.I. Shapiro, A.Y. Bagrov

National Institute of Aging, National Institutes of Health, Baltimore, Maryland, USA

College of Medicine, University of Toledo, Toledo, Ohio, USA

V.A. Almazov Heart, Blood and Endocrinology Center St. Petersburg, Russia

Resume

Several endogenous digitalis-like cardiotonic steroids (CTS) have been identified in humans, including endogenous ouabain, a cardenolide, and marinobufagenin which belongs to a class of bufadienolides. The main function of CTS is maintenance of sodium homeostasis and regulation of natriuretic function. Endogenous cardiotonic steroids bind to the Na/K-ATPase and exhibit two kinds of effects, inhibition of transmembrane transport of monovalent cations, and induction of a complex cascade of cell signaling. In Dahl salt-sensitive rats with NaCl-induced hypertension, endogenous ouabain, acting as a neurohormone stimulates adrenocortical marinobufagenin, which raises blood pressure via inhibition of vascular Na/K-ATPase. In a subgroup of hypertensive subjects, which possess a polymorphism of alpha-adducin gene, elevated levels of endogenous ouabain activate renotubular Na/K-ATPase and induce renal sodium retention. Elevated levels of CTS also contribute to pathogenesis of congestive heart failure, preeclampsia, and diabetes mellitus. The approaches to pharmacological antagonism of the effects of CTS include blockade of CTS receptor site on the Na/K-ATPase, immunoneutralization, and interactions at the levels of Na/K-ATPase phosphorylation/ dephosphorylation by protein kinases C and G.

Key words: endogenous cardiotonic steroids, NaCl-induced hypertension, Na/K-ATPase.

Статья поступила в редакцию: 16.07.08. и принята к печати: 18.08.08.

ВВЕДЕНИЕ

Известно, что чрезмерное потребление хлорида натрия увеличивает риск развития заболеваний сердечно-сосудистой системы и почек [1–6]. Влияние повышенного употребления хлорида натрия на развитие сердечно-сосудистых заболеваний подтверждается результатами ряда крупных клинических исследований таких, как INTERSALT (Международное исследование влияния хлорида натрия на артериальное давление) [7] и DASH — исследование (Диетический подход к прекращению артериальной гипертензии) [8]. Учитывая данные этих исследований, понимание механизмов, лежащих в основе действия хлорида натрия, становится особенно важным.

Настоящий обзор рассматривает роль эндогенных кардиотонических стероидов (КТС), также известных как дигиталис-подобные вещества или ингибиторы натрий-калиевого АТФ-зависимого насоса (Na/K-АТФ-азы), являющихся связующим звеном между диетической солью и развитием заболеваний почек и сердечно-сосудистой системы [9]. В частности, обзор рассматривает механизмы действия КТС в организме человека и потенциальные мишени для терапевтического воздействия в свете новых знаний. Значение и само существование этих веществ долгое время было предметом дискуссий [10–11]. Значимыми достижениями последних лет можно считать идентификацию отдельных эндогенных КТС [12–15], разработку методов

их определения и выяснение их роли в развитии ряда заболеваний [16–19], а также открытие роли Na/K–АТФ-азы в передаче клеточных сигналов [16–23].

ИСТОРИЯ ПРОБЛЕМЫ

В 1960-х годах стало очевидным, что эффекты ренин-ангиотензин-альдостероновой системы, вазопрессина и симпатической нервной системы не могут в полной мере объяснить физиологические и патофизиологические процессы, происходящие в ответ на острое или хроническое увеличение объема циркулирующей крови [24,25]. Эта точка зрения была убедительно описана в известной статье де Варденера и соавт., которые продемонстрировали, что натрийурез, вызванный инфузией физиологического раствора, сохраняется, даже когда перфузионное почечное давление и уровень клубочковой фильтрации искусственно поддерживаются на постоянном уровне [26]. Фактор, ответственный за этот феномен (названный «третьим фактором») был предметом интереса и поиска в 1960–1970-х годах. Cort и Lichardus, а также Buckalew с коллегами показали, что объем циркулирующей крови зависит от увеличения концентрации в плазме крови факторов, угнетающих активный транспорт ионов натрия *in vitro*. Важные предпосылки к пониманию роли «третьего фактора» были получены Schrier и коллегами [29–31], а также Kramer и Gonick [32]. Последние в опытах на крысах продемонстрировали, что увеличение объема циркулирующей крови приводит к стимуляции выработки вещества, способного подавлять активность Na/K–АТФ-азы почек. Bricker и соавт. [33,34], на основе исследований патогенеза прогрессирующей почечной недостаточности, выдвинули концепцию о циркулирующем натрийуретическом факторе, ингибирующем Na/K–АТФазу и вызывающем вазоконстрикцию, названную «компромиссной — trade-off» теорией. В 1980 г. Gruber с соавт. [35] в опытах на собаках показали, что увеличение объема циркулирующей крови сопровождается повышением уровня дигоксин-подобной иммунореактивности в плазме крови. Вскоре после этого Hamlyn с коллегами продемонстрировали положительную корреляцию между способностью плазмы крови к угнетению Na/K–АТФ-азы и показателями артериального давления у пациентов с гипертонической болезнью [36]. В то же время Kojima с соавт. [37] получили данные о том, что введение антител к дигоксину приводило к снижению артериального давления у крыс с дезоксикортикостерон-и соль-индуцированной гипертензией.

В окончательном виде «Концепция натрийуретического гормона» была сформулирована Blaustein'ом [19]: было выдвинуто предположение, что КТС являются регуляторами натриевого гомеостаза и оказывают натрийуретический эффект посредством угнетения Na/K–АТФ-азы в почечных проксимальных канальцах. Чрезмерное повышение уровня кардиотонических стероидов в плазме крови приводит к развитию мальдаптивного эффекта — угнетению Na/K–АТФ-азы — в гладкомышечных клетках кровеносных сосудов, что, в свою очередь, усиливает вазоконстрикцию за счет активации Na/Ca обменника вследствие повышения уровня внутриклеточного натрия и кальция.

В 1980-х и 1990-х годах интерес к теории ингибиторов Na/K–АТФ-азы снизился. Большинство исследований,

изначально проводившихся для изучения ингибирования Na/K–АТФ-азы, было основано на перекрестной реактивности предполагаемых эндогенных факторов с различными антителами к дигоксину, однако результаты этих исследований были противоречивыми [38–40]. Важным фактором явилось то обстоятельство, что дигиталис, прототип эндогенных ингибиторов Na/K-насоса, не обладает натрийуретическим действием [41].

Интерес к эндогенным КТС существенно возрос в течение последнего десятилетия, в основном, благодаря идентификации нескольких эндогенных КТС, включая убаин [12, 42–43], маринобуфагенин [14–15], телоцинобуфагин [15] и буфалин [13], обнаруженных как у животных, так и у человека (рис. 1). Кроме этого, было установлено, что эффекторная функция опосредованного Na/K–АТФ-азой каскада может не зависеть от ингибирования транспорта ионов КТС, а активируется при связывании последних с Na/K-насосом в присутствии киназ семейства Src и рецептора эпидермального фактора роста (РЭФР) [19, 44–47] (рис. 2). Наконец, были разработаны специфические иммунологические методы определения концентрации эндогенных КТС [16, 48–54].

ПОДТИПЫ ЭНДОГЕННЫХ КАРДИОТОНИЧЕСКИХ СТЕРОИДОВ

Эндогенные карденолиды

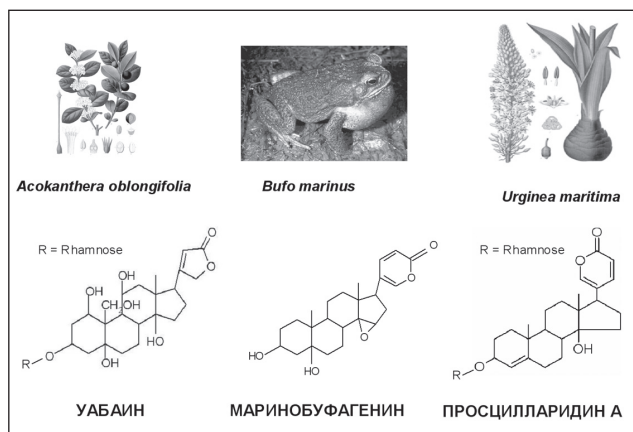
В 1991 году Hamlyn и соавт. [12] выделили из плазмы крови человека стероид, не отличимый от убаина растительного происхождения и названный эндогенным убаином. С момента публикации этого исследования эндогенный убаин был также выделен из бычьих надпочечников [42], гипоталамуса [43], а также из клеток мозгового слоя надпочечников крыс [55]. С помощью масс-спектрометрии и ядерного магнитно-резонансного исследования было установлено, что эндогенный убаин, выделенный у млекопитающих, идентичен растительному убаину [42–43, 55]. Предполагается, что корковый слой надпочечников и гипоталамус являются основными местами выработки убаина у млекопитающих [55–57]. Адренокортикотропный гормон, ангиотензин II, вазопрессин и адреномиметики активируют высвобождение убаина из коркового слоя надпочечников *in vitro* [58–59].

Было высказано предположение о том, что дигоксин является эндогенным КТС [60–61], обладающим антагонистическими свойствами по отношению к эндогенному убаину. [16, 62]. Однако высокая вариабельность выявления эндогенных дигоксин-подобных иммунореактивных субстанций с помощью специфичных иммунологических тестов у лиц, никогда не принимавших сердечных гликозидов [38, 41, 63], противоречит этой гипотезе.

Эндогенные буфадиенолиды

Ткани амфибий содержат КТС, относящиеся к классу буфадиенолидов, отличающиеся от карденолидов наличием двойного, ненасыщенного шести-мембранного лактозного кольца (рис.1) [64]. Препараты, содержащие буфадиенолиды, полученные из кожи лягушек и жаб, являлись традиционными средствами лечения хронической сердечной недостаточности на Дальнем Востоке [65]. Наиболее высокий уровень буфадиенолидов обнаружен

Рис. 1. Химическая структура некоторых КТС.



Убаин относится к карденолидам, классу КТС, выделенных из наперстянки (*Digitalis purpurea*) и других растений. Буфадиенолид маринобуфагенин был выделен из секрета паротидных желез жабы *Bufo marinus* и некоторых других земноводных. Просцилларидин-А выделен из морского лука (*Urginea maritima*) и является редким примером буфадиенолидов растительного происхождения.

в коже тех видов амфибий, которые мигрируют между ареалами с различным содержанием хлорида натрия в воде [66]. Так как кожный покров у амфибий регулирует транспорт электролитов и воды, а Na/K-насос является неотъемлемой частью этого процесса, было высказано предположение о том, что у амфибий буфадиенолиды являются эндогенными физиологическими регуляторами транспорта натрия [66–67]. В соответствии с этой гипотезой концентрации буфадиенолидов в головном мозге и в коже жаб в экспериментальных условиях изменяются в ответ на изменения уровня натрия в окружающей среде [67].

Эти наблюдения способствовали поиску эндогенных аналогов буфадиенолидов у млекопитающих. Первоначально, буфалин-подобная иммунореактивность была выявлена в желчи и плазме крови человека [68, 71]. Lichtstein и соавт. [13] выделили производные буфалина из хрусталика глаза нескольких видов млекопитающих. Позже эндогенный маринобуфагенин был идентифицирован в человеческой плазме крови и моче с использованием специфичных иммунологических тестов, масс-спектрометрии и, впоследствии, с помощью ядерной магнитно-резонансной спектроскопии маринобуфагенин был идентифицирован в плазме крови и моче млекопитающих [14–15]. Sich с соавт. [72] показали, что плазма крови человека и ткань надпочечников быка содержат вещества, перекрестно реагирующие с антителами к просцилларидину А, являющемуся редким примером буфадиенолида растительного происхождения (рис.1). Hilton с соавт. [73] выделили и с помощью масс-спектропии идентифицировали производные буфадиенолидов в плаценте и плазме крови человека.

Маринобуфагенин был предложен в качестве потенциального эндогенного КТС млекопитающих благодаря данным исследований фармакологических свойств этого стероида [74–76]. В нашей лаборатории были получены результаты о присутствии дигоксиподобного иммунореактивного вещества, обладающего сосудосуживающим, ингибирующим Na/K-насос и положительным инотроп-

ным эффектами, в секрете паротидных желез жабы *Bufo marinus* [74,75]. В дальнейшем было установлено, что это вещество является маринобуфагенином — стероидом, ранее описанным у земноводных [14–15]. Позже было показано, что антитела к маринобуфагенину перекрестно реагировали с плазмой и мочой человека, крыс и собак [14, 51, 63–64, 76].

Комиуама с соавт. [15] с помощью масс-спектрометрии и ядерной магнитно-резонансной спектроскопии показали, что плазма крови людей с уреимией содержит высокие концентрации другого буфадиенолида — телоцинобуфагина. Этот буфадиенолид отличается от маринобуфагенина наличием гидроксильной группы, а не эпоксидной группы, в 14 положении лактозного кольца; авторы исследования предположили, что телоцинобуфагин является естественным предшественником маринобуфагенина [15].

РОЛЬ КАРДИОТОНИЧЕСКИХ СТЕРОИДОВ В РАЗВИТИИ АРТЕРИАЛЬНОЙ ГИПЕРТЕНЗИИ

Эндогенный убаин

Почечные эффекты

Эндогенный убаин не отвечает критериям, предъявляемым к натриуретическому гормону (так, например, он не приводит к увеличению экскреции натрия хлорида), но этот гормон играет роль в адаптации организма как к уменьшению концентрации хлорида натрия, так и к солевой нагрузке. Несмотря на то, что результаты некоторых исследований свидетельствуют о высвобождении убаина под действием солевой нагрузки у нормотензивных крыс [77–78], это не нашло подтверждения в других экспериментах, поставленных на собаках [79–80], крысах [81] и людях [48–49]. Так, у 180 пациентов с нелеченой артериальной гипертензией концентрации эндогенного убаина в плазме крови не изменялись в течение двух недель солевой нагрузки (170 ммоль хлорида натрия в сутки), но увеличивались во время снижения потребления соли (salt restriction) в течение последующих двух недель (70 ммоль/сут.) [48]. У здоровых обследованных ограничение потребления хлорида натрия приводило к четырехкратному повышению концентрации эндогенного убаина в плазме крови, в то время как солевая нагрузка (171 ммоль хлорида натрия в сутки) сопровождалась тринадцатикратным повышением уровня эндогенного убаина в плазме крови уже на третий день; концентрации снижались в течение двух дней, но оставались умеренно повышенными в сравнении с исходным уровнем [50]. Такой же тип ответа на солевую нагрузку был получен в опытах на солечувствительных крысах линии Dahl [82–83] и в исследованиях на людях с нормальным уровнем артериального давления [84].

Целый ряд доказательств говорит в пользу гипотезы о гипертензивном действии убаина, включая «аддукционную теорию» [85], индукцию гипертензии убаином у крыс, а также выявление повышенного уровня эндогенного убаина в ЦНС у гипертензивных крыс. У крыс длительное внутривенное введение низких доз убаина (10–50 мг/кг/сутки) приводило к повышению артериального давления и развитию индуцированной гипертрофии миокарда [86–91]. Примечательно, что введение животным дигоксина (200 мг/кг/сутки) при-

водило к обратному развитию вызванной убаином гипертензии [62].

На основании результатов экспериментов, проведенных на гипертензивных крысах миланской линии (Milan Hypertensive Rats — MHS), был предложен механизм прогипертензивного действия эндогенного убаина. У крыс MHS была выявлена мутация гена, кодирующего белок цитоскелета аддуцин, а также повышение уровня эндогенного убаина [92]. В дальнейшем была выявлена корреляция обоих признаков с повышенной экспрессией и активностью Na/K-АТФ-азы эпителия почечных канальцев. Оказалось, что мутация гена аддуцина приводит к более продолжительной экспрессии Na/K-насоса на клеточной мембране [87, 93]. В отличие от убаин-резистентной $\alpha 1$ -Na/K-АТФ-азы почечного эпителия, $\alpha 1$ изоформа из кавеол эпителиальных клеток почечных канальцев обладает выраженной чувствительностью к убаину [87]. Субнанолярные концентрации убаина в плазме крыс MHS способствуют активации Na/K-АТФ-азы посредством стимуляции сигнального пути, зависящего от Src-ЭФР-экстрацеллюлярно-регулируемой протеин киназы (ERK), что приводит к задержке хлорида натрия почками и развитию артериальной гипертензии [87] (рис. 2).

Эндогенный убаин может также повышать артериальное давление путем ингибирования транспортной функции $\alpha 2$ -Na/K-АТФ-азы в гладкомышечных клетках сосудов, таким образом способствуя входу ионов кальция в клетки через специфические Na/Ca каналы [88, 94]. Так, у мышей с генетически индуцированной экспрессией убаин-резистентной $\alpha 2$ -Na/K-АТФ-азы не отмечается повышения артериального давления в ответ на длительное введение убаина в отличие от контрольной группы мышей с убаин-чувствительной $\alpha 2$ -Na/K-АТФ-азой [88]. Соответственно, гладкомышечные клетки сосудов мышей с убаин-резистентным $\alpha 2$ -Na⁺/K⁺-насосом нечувствительны к сосудосуживающему действию убаина [88]. Более того, у мышей с генетически подавленной экспрессией $\alpha 2$ -Na/K-АТФ-азы (но неизменной экспрессией $\alpha 1$ -Na/K-АТФ-азы) развивается артериальная гипертензия, а артерии этих животных обладают повышенным тонусом *in vitro* [94].

Следует отметить, что в некоторых исследованиях не было выявлено значимых различий между сродством убаина к Na/K-АТФ-азе, расположенной как в кавеолах эпителиальных клеток, так и вне их [47]. Тем не менее, в наших исследованиях было показано, что в эпителиоцитах проксимальных почечных канальцев как убаин-индуцированный сигнальный путь через каскад Na/K-АТФ-аза — Src-РЭФР, так и убаин-индуцированный клатрин-опосредованный эндоцитоз Na/K-насоса ограничены Na/K-АТФ-азой, локализованной в кавеолах эпителиальных клеток [95–96]. Nguyen с соавт. [97] предположили, что эти различия могут быть обусловлены различной степенью экспрессии γ -субъединицы Na/K-АТФ-азы в исследованных тканях.

В соответствии с данными о влиянии эндогенного убаина на задержку хлорида натрия в почках полиморфизмы гена аддуцина и повышенный уровень эндогенного убаина ассоциированы с повышенной реабсорбцией хлорида натрия в почках у ряда больных с артериальной

Рис. 2. Схематическое изображение «классического» («ионного») и «сигнального» путей воздействия кардиотонических стероидов (КТС) на геном и другие клеточные структуры.



Классический путь предполагает, что КТС, связываясь с Na/K-АТФ-азой, ингибируют ее, что приводит к изменению концентраций ионов Na⁺ и K⁺ в цитоплазме. Некоторые исследователи считают, что кавеоларная форма Na/K-АТФ-азы более чувствительна к ингибиторному действию КТС, и это, в первую очередь, отражается на энзиматической функции Na/K-АТФ-азы (объяснения в тексте). Увеличение концентрации ионов Na⁺ и уменьшение концентрации ионов K⁺ в цитоплазме приводят к увеличению концентрации свободного Ca²⁺, который, в свою очередь, участвует в активации геномных и не-геномных путей регуляции клеточного метаболизма. Напротив, «сигнальный» путь предполагает, что связывание КТС с кавеоларной формой Na/K-АТФ-азы вызывает взаимодействие фермента с Src с последующей активацией последнего. Это приводит к активации рецепторов эпидермального фактора роста (ЭФР) и фосфолипазы C (PLC) с последующей активацией протеин-киназы C (PKC). Параллельно запускается каскад событий, включающих продукцию свободных радикалов (CP), активацию внеклеточной сигнально-регулирующей киназы (ERK) посредством активации митоген-активируемой протеин-киназы (MAPK), а также активацию фосфатидил-инозитола (PI(3)K) с последующей стимуляцией эндоцитоза и активацией серин-треонин-зависимой протеин-киназы (Akt). Все вышеуказанные конечные продукты сигнального пути оказывают комбинированное воздействие на геном и другие клеточные структуры. Следует особо отметить, что на обоих — как ионном, так и сигнальном — путях допускается фармакологическое воздействие на уровне связывания КТС с Na/K-АТФ-азой (иммунная, или фармакологическая нейтрализация), а также на уровнях активации Src и ЭФР (б), PLC (в), MAPK (г), продукции CP (д) и PI(3)K активации (е). Также допускается модуляция сигнальных путей на уровне PKC (ж), ERK и Akt.

гипертензией [98]. Более того, введение производного дигитоксина ростафуросина (Rostafuroxin, PST 2238) гипертензивным крысам MHS [99] реверсировало эффект совместного действия эндогенного убаина и мутированного аддуцина на Na/K-АТФ-азу и приводило к снижению артериального давления и угнетению активности Na/K-АТФ-азы в мозговом веществе почек [87].

Влияние на головной мозг

Имеющиеся в настоящее время данные свидетельствуют о том, что эндогенный мозговой убаин спо-

способствует развитию солечувствительной гипертензии [100–103]. У крыс убаин, введенный в различные зоны центральной нервной системы, оказывает сосудосуживающий и натрийуретический эффекты, зависящие от активации ренин-ангиотензиновой системы [22, 104–105]. Подобные результаты получены в опытах на солечувствительных крысах линии Dahl, у которых введение натрия хлорида, как центрально, так и в системный кровоток, приводило к повышению уровня эндогенного убаина и к активации ренин-ангиотензиновой системы головного мозга [102–103, 105]. Leenen с соавт. [106–107] выявили, что повышение уровня хлорида натрия в цереброспинальной жидкости предшествует развитию артериальной гипертензии и что ионы натрия через специфические мозговые натриевые каналы (отличные от “классических” натриевых каналов эпителия ENaC) транспортируются внутрь клеток, играющих в центральной нервной системе роль “натриевых сенсоров” [108–109]. Этот процесс модулируется центральными минералокортикоидными рецепторами [108]. Эти данные свидетельствуют о том, что эндогенный убаин может исполнять роль центрального медиатора солечувствительной артериальной гипертензии (рис. 3).

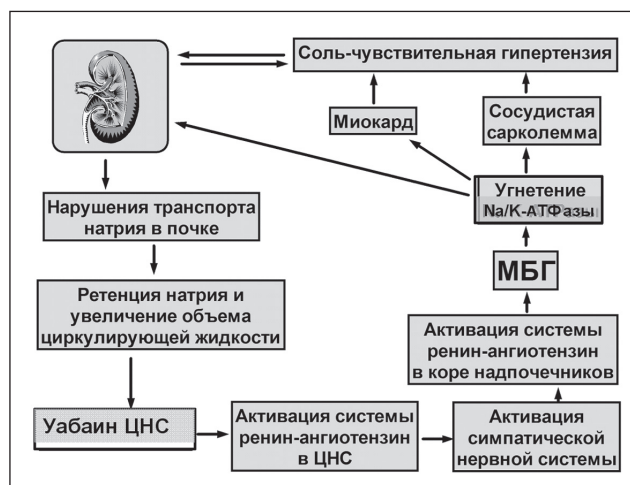
Эндогенный маринобуфагенин

У нормотензивных крыс концентрация маринобуфагенина в плазме крови повышается в ответ на острое увеличение объема циркулирующей крови так же, как и в ответ на длительные солевые нагрузки [81, 110–111]. Повышенные концентрации маринобуфагенина были выявлены у здоровых обследованных с увеличенным объемом циркулирующей крови [51], а также у пациентов с преэклампсией [52], гипертонической болезнью, первичным альдостеронизмом и хронической почечной недостаточностью [53–54]. В концентрациях, сопоставимых с уровнем этого стероида в плазме крови *in vivo*, маринобуфагенин вызывает вазоконстрикторный эффект *in vitro* [52, 76], а также ингибирование убаин-резистентной $\alpha 1$ -Na/K-АТФ-азы в аорте и мозговом веществе почек крыс [83, 112]. Таким образом, маринобуфагенин удовлетворяет требованиям, предъявляемым к натрийуретическому гормону. В дальнейшем было показано, что иммунонейтрализация маринобуфагенина с помощью специфических антител приводит к снижению показателей артериального давления и экскреции ионов натрия у солечувствительных крыс линии Dahl [83, 102]. Примечательно, что, используя эту же экспериментальную модель артериальной гипертензии, Lewis Dahl сделал предположение о существовании эндогенного сосудосуживающего и натрийуретического вещества [113].

Взаимодействие между эндогенным убаином и маринобуфагенином

Взаимодействие между центральными и периферическими КТС играет важную роль в развитии гипертензии у солечувствительных крыс линии Dahl (рис. 3). После острой или хронической солевой нагрузки у этих животных отмечается транзитное повышение эндогенного убаина в крови, предшествующее стойкому повышению концентрации маринобуфагенина плазмы [82–83]. Это наблюдение позволило предположить,

Рис. 3. Взаимодействия между мозговым эндогенным убаином, системой ренин-ангиотензин и маринобуфагенином в патогенезе соль-чувствительной артериальной гипертензии.



У солечувствительных крыс линии Dahl под действием солевой нагрузки вследствие генетического дефекта транспорта электролитов в почках происходит задержка натрия. Задержка натрия способствует высвобождению эндогенного убаина в гиппокампе, гипоталамусе и гипофизе. Мозговой эндогенный убаин стимулирует систему ренин-ангиотензин (РАС) в гипоталамусе и гипофизе, что, в свою очередь, активирует симпатическую нервную систему (СНС). В дальнейшем происходит стимуляция РАС надпочечников и активация синтеза маринобуфагенина (МБГ) в корковом веществе надпочечников. Маринобуфагенин, обладающий натрийуретическим и сосудосуживающим свойствами, индуцирует натрийурез путем ингибирования Na/K-АТФ-азы почечных канальцев. Избыточная продукция маринобуфагенина приводит к подавлению Na/K-АТФ-азы в гладкомышечных клетках сосудов, что способствует вазоконстрикции и повышает сократительную способность миокарда, способствуя развитию артериальной гипертензии.

ЦНС — центральная нервная система; МБГ — маринобуфагенин.

что эндогенный убаин, выполняя роль нейрого르몬а, запускает высвобождение маринобуфагенина, который, в свою очередь, способствует повышению сократимости миокарда, вазоконстрикции периферических сосудов и усилению натрийуреза путем подавления активности почечной Na/K-АТФ-азы [102–103]. В дальнейшем было показано, что наиболее выраженное преходящее повышение концентрации эндогенного мозгового убаина регистрируется в гиппокампе и в супраоптическом ядре гипоталамуса [102]. В головном мозге под действием эндогенного убаина происходит активация центральной ренин-ангиотензиновой системы, которая, вероятно, через повышение тонуса симпатической системы стимулирует ренин-ангиотензиновую систему надпочечников [102–103]. Активация надпочечниковой ренин-ангиотензиновой системы обеспечивает выработку и секрецию маринобуфагенина, что, в конечном итоге, приводит к повышению концентрации буфадиенолидов в плазме крови и в моче. Такая последовательность событий была успешно воспроизведена на крысах при введении очень низких доз (60 пг) убаина растительного происхождения в гиппокамп [102]. Недавно было показано, что у людей с нормальными показателями артериального давления на фоне солевой нагрузки, подобно солечувс-

твительным крысам линии Dahl, выявляется транзиторное повышение содержания эндогенного убаина в моче, предшествующее более стойкому повышению почечной экскреции маринобуфагенина [84].

Таким образом, представляется, что существует два механизма, включающих различные варианты ответа на КТС и играющих важную роль в развитии артериальной гипертензии. Вклад «аддуцинового механизма» показан у 30–40% пациентов с артериальной гипертензией, имеющих соответствующие полиморфизмы гена аддуцина и повышенный уровень эндогенного убаина [98]. Клиническое значение второго механизма (рис. 3), включающего в себя взаимодействие эндогенного мозгового убаина и циркулирующего маринобуфагенина, требует дальнейшего изучения.

КАРДИОТОНИЧЕСКИЕ СТЕРОИДЫ И НАТРИЙУРЕТИЧЕСКАЯ ФУНКЦИЯ ПОЧЕК

Несмотря на то, что, согласно определению, натрийуретическими являются вещества, повышающие экскрецию хлорида натрия почками, прототип эндогенных КТС — дигиталис — не является натрийуретиком в терапевтических дозах [41]. Однако, по результатам ряда исследований, другие КТС обладают натрийуретическими свойствами как *in vitro*, так и *in vivo* [114]. Так, маринобуфагенин является активным инбитором убаин-резистентной Na/K-АТФазы почек, а антитела к этому гормону снижают натрийурез в эксперименте *in vivo* [82–83, 103]. В наших исследованиях был показан дозозависимый эндоцитоз Na/K-АТФ-азы плазмалеммы, индуцированный КТС в клетках LLC-PK1; эти клетки по своим характеристикам похожи на клетки проксимальных почечных канальцев [115]. На линии клеток собак (MDCK), имеющих сходство с клетками дистальных почечных канальцев, такой эффект не наблюдался. Было показано, что транспорт Na/K-насоса происходит путем клатрин-опосредованного эндоцитоза, зависящего от Src-ЭФР-стимулированной активации фосфоинозитид-3 киназы [95,96] (рис. 2). На модели крыс *in vivo* нами было отмечено, что индуцированный маринобуфагенином эндоцитоз способствовал увеличению реабсорбции натрия при увеличении употребления соли [111]. В этом эксперименте повышенное употребление соли приводило к увеличению экскреции маринобуфагенина и натрия с мочой, снижению экспрессии Na/K-АТФ-азы в проксимальных канальцах, что усиливает накопление Na/K-АТФ-азы как в ранних, так и в поздних эндосомах и уменьшает реабсорбцию натрия. Введение антител к маринобуфагенину блокирует эндоцитоз Na/K-АТФ-азы и нивелирует повышение экскреции натрия [111].

КТС могут также вызывать уменьшение экспрессии Na⁺/H⁺-транспортера 3 типа (NHE3) на апикальной поверхности клеток проксимальных почечных канальцев [114, 116]. Снижение экспрессии NHE3 под действием КТС может быть связано с уменьшением транскрипции NHE3; в то же время предполагается, что связывание убаина с Na/K-АТФ-азой, расположенной на базолатеральной поверхности клеток, быстро стимулирует эндоцитоз NHE3 на апикальной поверхности [117]. Обобщая описанные данные, можно предположить, что солевая нагрузка связана с повышением уровня циркулирую-

щего маринобуфагенина, что, в свою очередь, приводит к снижению транспорта натрия как на апикальной, так и на базолатеральной поверхностях проксимальных канальцев, тем самым увеличивая натрийурез.

РОЛЬ КАРДИОТОНИЧЕСКИХ СТЕРОИДОВ В РАЗВИТИИ ХРОНИЧЕСКОЙ СЕРДЕЧНОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТИ

Хроническая сердечная недостаточность (ХСН) характеризуется задержкой жидкости в организме и увеличением объема циркулирующей крови, то есть является состоянием, при котором можно ожидать повышение высвобождения КТС (рис. 3) [118]. В 1981 г. Schreiber и Kölbl [119] выдвинули гипотезу о возможной роли КТС в развитии гипертрофии миокарда. В 1988 г. Morise с коллегами [120] в опытах на крысах выявили связь ХСН с повышенной активностью в плазме крови фактора, ингибирующего Na/K-АТФазу. В 1990 г. Liu с соавт. [121] в группе из 50 пациентов получили данные о положительной корреляции тяжести ХСН с уровнем дигоксиноподобной иммунореактивности плазмы крови и с концентрацией натрия в эритроцитах. В нескольких исследованиях был произведен анализ взаимосвязей между КТС, геометрией сердца и центральными гемодинамическими параметрами. Gottlieb с соавт. [122] установили, что, несмотря на отсутствие увеличения плазменной концентрации эндогенного убаина при прогрессировании ХСН, его уровень был значимо повышен у лиц с выраженным снижением функции левого желудочка (фракция выброса левого желудочка менее 30%).

Manunta с коллегами [123] выявили положительную корреляцию между концентрацией эндогенного убаина в плазме крови и цифрами систолического и диастолического артериального давления в группе, включавшей 110 нормотензивных испытуемых и 100 пациентов с артериальной гипертензией. Уровень эндогенного убаина также положительно коррелировал с индексом массы миокарда и конечно-диастолическим объемом левого желудочка у пациентов с артериальной гипертензией. Pierdomenico с соавт. [124] при обследовании 92 пациентов с артериальной гипертензией обнаружили положительную корреляцию уровня циркулирующего эндогенного убаина со средним артериальным давлением и общим периферическим сопротивлением сосудов, а также обратную корреляционную связь между конечно-диастолическим объемом левого желудочка, ударным и сердечным объемами и плазменной концентрацией убаина. В этом же исследовании концентрация убаина в плазме крови была значительно выше у пациентов с эксцентрическим ремоделированием сердца, чем у лиц с нормальной геометрией миокарда либо концентрическим типом гипертрофии [124]. В другом исследовании более высокие концентрации убаина в плазме крови отмечались у пациентов с дисфункцией левого желудочка по сравнению со здоровыми людьми, однако, при этом не было выявлено связи с фракцией выброса левого желудочка [125].

Pitzalis с соавт. [126] показали, что уровень циркулирующего эндогенного убаина коррелировал с прогрессированием сердечной недостаточности у 140 пациентов с идиопатической дилатационной кардиомиопатией.

Также концентрация убаина была ассоциирована с гипертрофией миокарда желудочков сердца у пациентов с хронической почечной недостаточностью [127].

У 23 мужчин с артериальной гипертензией и ХСН было выявлено значимое повышение уровня маринобуфагенина в плазме крови, которое положительно коррелировало с степенью прогрессирования ХСН и увеличением плазменной концентрации α -предсердного натрийуретического пептида [54]. Хотя у больных с различными функциональными классами ХСН уровень эндогенного убаина в плазме крови не отличался, было отмечено, что он был значительно выше в субпопуляции пациентов с фракцией выброса менее 30% (А.Я. Багров, неопубликованные данные). Похожие результаты были получены Gottlieb с коллегами [122].

Согласно экспериментальным данным, также выявляется связь между плазменной концентрацией КТС и ремоделированием сердечно-сосудистой системы. Так, в исследовании на нормотензивных крысах линии Fisher 344 $\times$ Brown Norway, получавших диету с 4%-ным содержанием соли, было отмечено повышение концентрации маринобуфагенина в плазме крови и пропорциональное увеличение массы миокарда при отсутствии развития артериальной гипертензии [81]. Длительное внутривенное введение убаина, достаточное для двукратного повышения плазменного убаина, подтвержденного иммунологически, также приводило к левожелудочковой гипертрофии у нормотензивных крыс [87].

В исследовании на солечувствительных крысах линии Dahl на фоне диеты с 8%-ным содержанием соли было выявлено изменение функции левого желудочка (развитие компенсированной гипертрофии левого желудочка, прогрессирующей в дилатационную кардиомиопатию) и коррелировавшее с ним изменение концентрации КТС в плазме, а также изменение содержания $\alpha 1$, $\alpha 2$ и $\alpha 3$ изоформ Na/K-АТФ-азы в стенке левого желудочка [128]. Так, развитие выраженной гипертрофии левого желудочка было ассоциировано с повышенной плазменной концентрацией маринобуфагенина, повышенной экспрессией $\alpha 1$ -изоформы Na/K-АТФ-азы, обладающей высокой чувствительностью к маринобуфагенину, и сниженной экспрессией $\alpha 2$ -изоформы Na/K-АТФ-азы в стенке левого желудочка. Эти изменения сопровождались повышенной чувствительностью натриевого насоса миокарда к маринобуфагенину. Развитие ХСН было четко связано с резким падением уровня плазменного маринобуфагенина и уменьшением абсолютной экспрессии $\alpha 1$ -изоформы Na/K-АТФ-азы в миокарде левого желудочка. Примечательно, что уровень эндогенного убаина возрастал по мере развития ХСН, что коррелировало с повышением экспрессии $\alpha 3$ -изоформы Na/K-АТФ-азы, чувствительной к убаину, в стенке левого желудочка, а также с повышением чувствительности сердечной Na/K-АТФ-азы к убаину [128].

Вышеописанные «координированные» сдвиги в уровне КТС и экспрессии их рецепторов, изоформ Na/K-АТФ-азы, могут иметь функциональное значение. Известно, что убаин и маринобуфагенин в культуре клеток почечных канальцев (MDCK) запускают сигнальные пути, инициирующие клеточный рост и апоптоз, соответственно [129]. Существование эндогенных

КТС с различными эффектами на выживаемость клеток наводит на размышления о целесообразности сосуществования различных путей клеточной сигнализации, индуцированных Na/K-АТФазой. Так, развитие компенсированной гипертрофии левого желудочка сопровождается повышением уровня индуктора тканевого роста, маринобуфагенина, и повышенной чувствительностью миокардиоцитов к этому гормону. В то же время развитие декомпенсированной ХСН, состояния, при котором апоптоз имеет адаптивное значение [130], сопровождается снижением плазменной концентрации маринобуфагенина, трехкратным увеличением уровня эндогенного убаина и повышенной чувствительностью миокардиального натриевого насоса к убаину [128].

КАРДИОТОНИЧЕСКИЕ СТЕРОИДЫ В ПАТОГЕНЕЗЕ ПОЧЕЧНОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТИ

Развитие уремической кардиомиопатии основано на прогрессии диастолической дисфункции сердца, которая приводит к эксцентрической гипертрофии миокарда и, реже, — к систолической дисфункции [131]. Согласно данным эхокардиографии, диастолическая дисфункция очень часто сопровождает гипертрофию миокарда, в то время как систолическая дисфункция наблюдается значительно реже, менее чем у 20% пациентов с почечной недостаточностью. Патогенетические механизмы развития гипертрофии миокарда при хронической почечной недостаточности малоизучены и не могут быть объяснены лишь повышением артериального давления [132]. Как было упомянуто выше, у пациентов с хронической почечной недостаточностью часто выявляется повышение уровня как телоцинобуфагина, так и маринобуфагенина [15, 53].

Для изучения роли КТС в развитии почечной недостаточности нами была использована экспериментальная модель почечной недостаточности, основанная на субтотальной (удаление 5/6 почечной массы) нефрэктомии у крыс [133] и, совсем недавно, у мышей [134]. У экспериментальных животных с почечной недостаточностью было выявлено повышение уровня маринобуфагенина (сходное с аналогичными показателями у пациентов с почечной недостаточностью), диагностирована диастолическая дисфункция и гипертрофия миокарда, а также получены доказательства активации инициированного Na/K-АТФазой Src-EGFR-ERK-зависимого пути сигнализации в миокарде [133–134]. На этих моделях было также показано быстрое развитие фиброза миокарда [133–136], также осложняющего течение уремической кардиомиопатии в клинике [137]. У крыс инфузия маринобуфагенина до достижения плазменной концентрации, наблюдаемой после нефрэктомии, также приводила к активации Src-EGFR-ERK-опосредованного сигнального каскада и к развитию характерных признаков экспериментальной уремической кардиомиопатии. Активная иммунизация животных против маринобуфагенина приводила к снижению уровня большинства биохимических и морфологических маркеров уремической кардиомиопатии и сопровождалась улучшением функции левого желудочка [135–136]. Соответственно, малые дозы маринобуфагенина (и других КТС) *in vitro*

индуцируют синтез коллагена в первичной культуре сердечных фибробластов [134,135], что также обусловлено активацией инициированного Na/K-АТФазой Src-EGFR-ERK-опосредованного сигнального пути.

РОЛЬ КАРДИОТОНИЧЕСКИХ СТЕРОИДОВ В ПАТОГЕНЕЗЕ ПРЕЭКЛАМПСИИ

Учитывая тот факт, что при беременности наблюдается увеличение объема циркулирующей крови вследствие задержки натрия и жидкости [138–139], изучение роли КТС при беременности и в развитии патологии беременности представляется закономерным. Gusdon с соавт. и Graves с соавт. [140–141] первыми выявили увеличение концентрации циркулирующих КТС при беременности и предположили, что эти вещества играют роль в патогенезе преэклампсии.

После внедрения в практику иммунологических методов определения отдельных КТС было показано, что развитие тяжелой преэклампсии сопровождается двух- и четырехкратным повышением концентрации убаина и маринобуфагенина, соответственно [52]. У женщин с менее тяжелым течением преэклампсии повышение уровня маринобуфагенина сопровождалось угнетением Na/K-АТФ-азы в эритроцитах, однако, уровень эндогенного убаина значимо не повышался; ex vivo обработка эритроцитов антителами к маринобуфагенину, но не к убаину, приводила к восстановлению активности фермента [142].

Несмотря на то, что физиологическая роль КТС при беременности еще до конца не ясна, описано более 60 случаев успешного применения антител к дигоксину Digibind® (GlaxoSmithKline) при преэклампсии [143–145]. В основе антигипертензивного эффекта Digibind® лежит перекрестная иммунореактивность дигоксина с эндогенными КТС [143–145]. Эти данные подтверждаются результатами ряда других исследований, в которых были продемонстрированы вазорелаксирующее действие Digibind® на сосуды выделенных перфузируемых плацент, полученных от пациенток с преэклампсией [146], а также повышение чувствительности Na/K-АТФ-азы клеток преэкламптических плацент к препаратам дигиталиса [147]. Маринобуфагенин-иммунореактивный фактор, выделенный из плазмы крови женщин с преэклампсией, обладал такими же хроматографическими свойствами, как и маринобуфагенин, полученный из культуры клеток коркового вещества надпочечников мышей [148].

Роль КТС в развитии преэклампсии была исследована и в эксперименте на животных. У крыс линии Sprague-Dawley высокое употребление соли (замена питьевой воды на 1,8% раствор хлорида натрия в течение 14–20 дней беременности) приводило к увеличению плазменной концентрации маринобуфагенина, без повышения уровня убаина, к повышению артериального давления, развитию протеинурии и снижению веса, роста и количества плодов [149]. Введение антител к маринобуфагенину привело к снижению артериального давления на 28 мм рт.ст. и к восстановлению активности Na/K-АТФ-азы в сосудах [149]. У беременных крыс с артериальной гипертензией, индуцированной путем введения ацетата дезоксикортикостерона и повышенного употребления соли, была выявлена повышенная чув-

ствительность маточных артерий к сосудосуживающему действию маринобуфагенина, а антитела к маринобуфагенину обладали антигипертензивным действием [150]. Таким образом, можно предположить, что повышение концентрации циркулирующего маринобуфагенина приводит к ингибированию Na/K-АТФ-азы и вносит вклад в развитие преэклампсии. В подтверждение этому недавно было показано, что низкие концентрации маринобуфагенина нарушают дифференциацию цитотрофобласта in vitro [151].

КАРДИОТОНИЧЕСКИХ СТЕРОИДЫ ПРИ ДРУГИХ ПАТОЛОГИЧЕСКИХ СОСТОЯНИЯХ

Учитывая участие КТС в регуляции транспорта и сигнальной функции ключевого мембранного фермента, Na/K-АТФ-азы, неудивительно, что список патологических состояний, в развитии которых его роль доказана, не исчерпывается гипертонической болезнью, почечной недостаточностью, преэклампсией и сердечной недостаточностью. Имеется ряд доказательств участия КТС в развитии поведенческих расстройств [81, 152], физиологического ответа на физическую нагрузку [153], индуцированных ишемией миокарда желудочковых аритмий [154], маниакально-депрессивного синдрома [155–156] и алкогольной зависимости [157].

Повышенный уровень КТС, наряду с измененной функцией Na/K-АТФ-азы, был выявлен у пациентов и экспериментальных животных с сахарным диабетом [158–159]. Согласно результатам последних исследований, у крыс с сахарным диабетом 1 типа выявляется более высокий уровень маринобуфагенина в моче и более выраженное подавление Na/K-АТФ-азы по сравнению с крысами с сахарным диабетом 2 типа. Эти наблюдения свидетельствуют о связи между уровнем гликемии при сахарном диабете и показателями экскреции маринобуфагенина и ингибирования Na/K-АТФ-азы [160]. Эти данные, наряду с результатами клинических исследований, в которых было показано увеличение синтеза КТС под действием пероральной нагрузки глюкозой, свидетельствуют об участии КТС в регуляции толерантности к глюкозе.

Кроме этого, предполагается участие КТС в патогенезе злокачественных опухолей [162]. In vitro, наряду с рост-стимулирующим эффектом, было продемонстрировано противораковое действие КТС, что позволило выдвинуть гипотезу о возможном использовании ингибиторов Na/K-АТФ-азы для лечения онкологических заболеваний [163].

НОВЫЕ ТЕРАПЕВТИЧЕСКИЕ ВОЗМОЖНОСТИ

Как транспортная функция Na/K-АТФ-азы, так и опосредованные Na/K-АТФ-азой сигнальные пути могут являться потенциальными мишенями для терапевтического воздействия (рис.2).

Блокаторы рецепторов КТС на Na/K-АТФ-азе (“антагонисты Na/K-АТФ-азы”) представляются перспективными препаратами для воздействия на КТС, включая оба механизма их действия, ионный и сигнальный. Получены интересные данные о ростафуроксине (Rostafuroxin, Sigma-Tau, Италия), производном дигитоксина, являющемся антагонистом эндогенного убаина [164]. У крыс с гипертензией, вызванной хро-

ническим введением убаина, ростафуросин снижал артериальное давление, а также массу левого желудочка и почек [87, 99]. Эффективность ростафуросина у пациентов с артериальной гипертензией и предполагаемая зависимость его эффективности от генотипа аддуцина в настоящее время оцениваются во II фазе многоцентрового исследования (OASIS-HT; Ouabain and Adducin for Specific Intervention on Sodium in HyperTension — Убаин, аддуцин и специфическое воздействие на обмен натрия при артериальной гипертензии) [165].

Спиринолактон и его основной метаболит канренон (canrenone) также являются потенциальными антагонистами КТС на уровне их связывания с рецепторной частью натриевого насоса. В эксперименте как спинолактон, так и канренон препятствуют связыванию убаина с Na/K-АТФ-азой, а также предотвращают вызванное КТС угнетение Na/K-насоса [166]. Канренон снижает артериальное давление и восстанавливает активность Na/K-АТФ-азы у крыс с объем-зависимой артериальной гипертензией [167]. Этот препарат был предложен в качестве средства лечения дигиталисной интоксикации [168].

In vivo иммунонейтрализация КТС может стать новым методом лечения некоторых артериальных гипертензий. Так, например, эффективность Digibind® при лечении преэклампсии является одним из главных аргументов в пользу прогипертензивного действия КТС [143–145]. В 2008 г. завершено исследование DEEP (Double-Blind Placebo Controlled Study of the Efficacy of Digibind in Preeclampsia), многоцентровое, двойное слепое, плацебо-контролируемое исследование эффективности Digibind® при преэклампсии [169]. Предварительные данные исследования свидетельствуют как о ренопротективном действии Digibind® у пациенток с тяжелой преэклампсией, так и о снижении частоты осложнений со стороны плода.

Иммунонейтрализация КТС может быть элементом комплексной терапии пациентов с синдромом церебральной потери натрия (cerebral salt wasting syndrome) — состояния, часто встречающегося при черепно-мозговых травмах и зачастую сопровождающегося натрийурезом, приводящим к жизнеугрожающей гипонатремии. Так, Menezes с соавт. [170] успешно применили Digibind® у пациента с неконтролируемым натрийурезом, развившимся после удаления опухоли головного мозга.

Потенциальной мишенью для терапевтического воздействия на кардиоактивные стероиды является протеин-киназа С (РКС), фермент, регулирующий как активность Na/K-АТФ-азы, так и чувствительность этого фермента к КТС. Например, циклетанин (Cicletanine), препарат, обладающий антигипертензивным действием и ингибирующий протеин-киназу С, особенно эффективен у экспериментальных животных с объем-зависимыми формами гипертензии, вызванными повышенным потреблением хлорида натрия. Циклетанин, вызывая угнетение РКС, дефосфорилирует Na/K-АТФ-азу и снижает чувствительность этого фермента к кардиоактивным стероидам как in vitro, так и in vivo [171].

Предсердный натрийуретический пептид, действуя через cGMP-зависимый путь, потенцирует угнетение Na/K-АТФ-азы почечных канальцев маринобуфагенином, и в то же время оказывает противоположный эффект в

гладкомышечных клетках сосудов [172]. Таким образом, предсердный натрийуретический пептид способен потенцировать физиологический эффект кардиоактивных стероидов, натрийурез и одновременно предотвращать вызванную этими веществами избыточную вазоконстрикцию [172].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Наше понимание роли КТС в норме и при патологии стало значительно глубже в последние десятилетия, учитывая открытие нескольких эндогенных КТС у млекопитающих и установление их роли в развитии различных патологических состояний. Однако это лишь вершина айсберга; мы надеемся, что со временем более глубокое понимание механизмов биосинтеза и метаболизма КТС, а также роли этих гормонов и Na/K-АТФ-азы в клеточной сигнализации приведут к появлению новых терапевтических возможностей.

Исследования, проведенные А.Я. Багровым и О.В. Федоровой, поддержаны интрамуральной научной программой Национального института старения (Национальные институты здоровья США).

Литература

1. Ritz E. The history of salt-aspects of interest to the nephrologist. *Nephrol Dial Transplant* 1996;11:969–975.
2. Meneton P, Jeunemaitre X, de Wardener HE, MacGregor GA. Links between dietary salt intake, renal salt handling, blood pressure, and cardiovascular diseases. *Physiol Rev* 2005;85(2):679–715.
3. Taubes G. The (political) science of salt. *Science* 1998;281:898–901.
4. De Wardener HE, MacGregor GA. Sodium and blood pressure. *Curr Opin Cardiol* 2002;17:360–367.
5. Weinberger MH. Pathogenesis of salt sensitivity of blood pressure. *Curr Hypertens Rep* 2006;8:166–170.
6. Ritz E, Dikow R, Morath C, Schwenger V. Salt—a potential ‘uremic toxin’? *Blood Purif* 2006;24:63–66.
7. Stamler J, Rose G, Elliott P, Dyer A, Marmot M, Kesteloot H, Stamler R. Findings of the international cooperative INTERSALT study. *Hypertension* 1991;17 (Suppl 1):19–15.
8. Appel LJ, Moore TJ, Obarzanek E, Vollmer WM, Svetkey LP, Sacks FM et al. A clinical trial of the effects of dietary patterns on blood pressure. DASH Collaborative Research Group. *N Engl J Med* 1997;336(16):1117–1124.
9. de Wardener HE, Clarkson EM. Concept of natriuretic hormone. *Physiol Rev* 1985;65:658–759.
10. Kelly RA, Smith TW. Is ouabain the endogenous digitalis? *Circulation* 1992;86:694–697.
11. Hansen O. No evidence for a role in signal transduction of Na⁺/K⁺-ATPase interaction with putative endogenous ouabain. *Eur J Biochem* 2003;270:1916–1919.
12. Hamlyn JM, Blaustein MP, Bova S, DuCharme DW, Harris DW, Mandel F et al. Identification and characterization of an ouabain-like compound from human plasma. *Proc Natl Acad Sci USA* 1991;88(14):6259–6263.
13. Lichtstein D, Gati I, Samuelov S, Berson D, Rozenman Y, Landau L, Deutsch J. Identification of digitalis-like compounds in human cataractous lenses. *Eur J Biochem* 1993;216(1):261–268.
14. Bagrov AY, Fedorova OV, Dmitrieva RI, Howald WN, Hunter AP, Kuznetsova EA, Shpen VM. Characterization of a urinary bufodienolide Na⁺,K⁺-ATPase inhibitor in patients after acute myocardial infarction. *Hypertension* 1998;31(5):1097–1103.
15. Komiyama Y, Dong XH, Nishimura N, Masaki H, Yoshika M, Masuda M, Takahashi H. A novel endogenous digitalis, telocinobufagin, exhibits elevated plasma levels in patients with terminal renal failure. *Clin Biochem* 2005;38(1):36–45.

16. 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:C509–C536.
17. Haddy FJ. Role of dietary salt in hypertension. *Life Sci* 2006;79:1585–1592.
18. Orlov SN, Hamet P. The death of cardiotoxic steroid-treated cells: evidence of Na⁺/K⁺-independent H⁺-sensitive signalling. *Acta Physiol (Oxf)* 2006;187:231–240.
19. Pierre SV, Xie Z. The Na⁺/K⁺-ATPase receptor complex: its organization and membership. *Cell Biochem Biophys* 2006;46(3):303–316.
20. Nesher M, Shpolansky U, Rosen H, Lichtstein D. The digitalis-like steroid hormones: new mechanisms of action and biological significance. *Life Sci* 2007;80:2093–2107.
21. Wasserstrom JA, Aistrup GL. Digitalis: new actions for an old drug. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2005;289:H1781–H1793.
22. Huang BS, Amin MS, Leenen FH. The central role of the brain in salt-sensitive hypertension. *Curr Opin Cardiol* 2006;21:295–304.
23. Blaustein MP, Zhang J, Chen L, Hamilton BP. How does salt retention raise blood pressure? *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 2006;290(3):R514–R523.
24. Schrier RW, Berl T. Nonosmolar factors affecting renal water excretion (first of two parts). *N Engl J Med* 1975;292:81–88.
25. Schrier RW. Body fluid volume regulation in health and disease: a unifying hypothesis. *Ann Intern Med* 1990;113:155–159.
26. De Wardener HE, Mills IH, Clapham WF, Hayter CJ. Studies on the efferent mechanism of the sodium diuresis which follows the administration of intravenous saline in the dog. *Clin Sci* 1961;21:249–258.
27. Cort JH, Lichardus B. The natriuretic activity of jugular vein blood during carotid occlusion. *Physiol Bohemoslov* 1963;12:497–501.
28. Buckalew VM Jr, Martinez FJ, Green WE. The effect of dialysates and ultrafiltrates of plasma of saline-loaded dogs on toad bladder sodium transport. *J Clin Invest* 1970;49(5):926–935.
29. Schrier RW, McDonald KM, Marshall RA, Lauler DP. Absence of natriuretic response to acute hypotonic intravascular volume expansion in dogs. *Clin Sci* 1968;34(1):57–72.
30. Schrier RW, Verroust PJ, Jones JJ, Fabian M, Lee J, De Wardener HE. Effect of isotonic saline infusion and acute haemorrhage on plasma oxytocin and vasopressin concentrations in dogs. *Clin Sci* 1968;35:433–443.
31. de Wardener HE, Clarkson EM, Nutbourne DM, Schrier RW, Talner LB, Ventom MG, Verroust PJ. Evidence for a hormone other than aldosterone which controls urinary sodium excretion. *Adv Nephrol Necker Hosp* 1971;1:97–111.
32. Kramer HJ, Gonick HC. Effect of extracellular volume expansion on renal Na⁺/K⁺-ATPase and cell metabolism. *Nephron* 1974;12:281–296.
33. Kaplan MA, Bourgoignie JJ, Rosecan J, Bricker NS. The effects of the natriuretic factor from uremic urine on sodium transport, water and electrolyte content, and pyruvate oxidation by the isolated toad bladder. *J Clin Invest* 1974;53(6):1568–1577.
34. Bricker NS, Schmidt RW, Favre H, Fine L, Bourgoignie JJ. On the biology of sodium excretion: the search for a natriuretic hormone. *Yale J Biol Med* 1975;48(4):293–303.
35. Gruber KA, Whitaker JM, Buckalew VM Jr. Endogenous digitalis-like substance in plasma of volume-expanded dogs. *Nature* 1980;287(5784):743–745.
36. Hamlyn JM, Ringel R, Schaeffer J, Levinson PD, Hamilton BP, Kowarski AA, Blaustein MP. A circulating inhibitor of (Na⁺ + K⁺)-ATPase associated with essential hypertension. *Nature* 1982;300(5893):650–652.
37. Kojima I, Yoshihara S, Ogata E. Involvement of endogenous digitalis-like substance in genesis of deoxycorticosterone-salt hypertension. *Life Sci* 1982;30(21):1775–1781.
38. Goto A, Yamada K, Yagi N, Yoshioka M, Sugimoto T. Physiology and pharmacology of endogenous digitalis-like factors. *Pharmacol Rev* 1992;44(3):377–399.
39. Bergdahl B, Molin L. Precision of digoxin radioimmunoassays and matrix effects: four kits compared. *Clin Biochem* 1981;14(2):67–71.
40. Pleasants RA, Gadsden RH Sr, McCormack JP, Pivarel K, Sawyer WT. Interference of digoxin-like immunoreactive substances with three digoxin immunoassays in patients with various degrees of renal function. *Clin Pharm* 1986;5(10):810–816.
41. Hauptman PJ, Kelly RA. Digitalis. *Circulation* 1999;99:1265–1270.
42. 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(2):784–792.
43. Kawamura A, Guo J, Itagaki Y, Bell C, Wang Y, Haupt GT Jr et al. On the structure of endogenous ouabain. *Proc Natl Acad Sci USA* 1999;96(12):6654–6659.
44. Xie Z, Askari A. Na⁺/K⁺-ATPase as a signal transducer. *Eur J Biochem* 2002;269(10):2434–2439.
45. Liu L, Mohammadi K, Aynafshar B, Wang H, Li D, Liu J et al. Role of caveolae in signal transducing function of cardiac Na⁺/K⁺-ATPase. *Am J Physiol Cell Physiol* 2003;284(6):C1550–C1560.
46. Wang H, Haas M, Liang M, Cai T, Tian J, Li S, Xie Z. Ouabain assembles signaling cascades through the caveolar Na⁺/K⁺-ATPase. *J Biol Chem* 2004;279(17):17250–17259.
47. Liang M, Tian J, Liu L, Pierre S, Liu J, Shapiro J, Xie ZJ. Identification of a pool of nonpumping Na⁺/K⁺-ATPase. *J Biol Chem* 2007;282(14):10585–10593.
48. Manunta P, Messaggio E, Ballabeni C, Sciarone MT, Lanzani C, Ferrandi M et al. Plasma ouabain-like factor during acute and chronic changes in sodium balance in essential hypertension. *Hypertension* 2001;38(2):198–203.
49. Balzan S, Nicolini G, Iervasi A, Di Cecco P, Fommei E. Endogenous ouabain and acute salt loading in low-renin hypertension. *Am J Hypertens* 2005;18(7):906–909.
50. Manunta P, Hamilton BP, Hamlyn JM. Salt intake and depletion increase circulating levels of endogenous ouabain in normal men. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 2006;290(3):R553–R559.
51. Bagrov AY, Fedorova OV, Austin-Lane JL, Dmitrieva RI, Anderson DE. Endogenous marinobufagenin-like immunoreactive factor and Na⁺/K⁺-ATPase inhibition during voluntary hypoventilation. *Hypertension* 1995;26(5):781–788.
52. Lopatin DA, Ailamazian EK, Dmitrieva RI, Shpen VM, Fedorova OV, Doris PA, Bagrov AY. Circulating bufodienolide and cardenolide sodium pump inhibitors in preeclampsia. *J Hypertens* 1999;17(8):1179–1187.
53. Gonick HC, Ding Y, Vaziri ND, Bagrov AY, Fedorova OV. Simultaneous measurement of marinobufagenin, ouabain and hypertension associated protein in various disease states. *Clin Exp Hypertens* 1998;20(5-6):617–627.
54. Fridman AI, Matveev SA, Agalakova NI, Fedorova OV, Lakatta EG, Bagrov AY. Marinobufagenin, an endogenous ligand of alpha-1 Na⁺/K⁺-ATPase, is a marker of congestive heart failure severity. *J Hypertens* 2002;20(6):1189–1194.
55. Komiya Y, Nishimura N, Munakata M, Mori T, Okuda K, Nishino N et al. Identification of endogenous ouabain in culture supernatant of PC12 cells. *J Hypertens* 2001;19(2):229–236.
56. Murrell JR, Randall JD, Rosoff J, Zhao JL, Jensen RV, Gullans SR, Haupt GT Jr. Endogenous ouabain: upregulation of steroidogenic genes in hypertensive hypothalamus but not adrenal. *Circulation* 2005;112(9):1301–1308.
57. el-Masri MA, Clark BJ, Qazzaz HM, Valdes R Jr. Human adrenal cells in culture produce both ouabain-like and dihydroouabain-like factors. *Clin Chem* 2002;48(10):1720–1730.
58. Laredo J, Shah JR, Lu ZR, Hamilton BP, Hamlyn JM. Angiotensin II stimulates secretion of endogenous ouabain from

bovine adrenocortical cells via angiotensin type 2 receptors. *Hypertension* 1997;29(1 Pt 2):401–407.

59. Shah JR, Laredo J, Hamilton BP, Hamlyn JM. Effects of angiotensin II on sodium potassium pumps, endogenous ouabain, and aldosterone in bovine zona glomerulosa cells. *Hypertension* 1999;33(1 Pt 2):373–377.

60. Goto A, Ishiguro T, Yamada K, Ishii M, Yoshioka M, Eguchi C et al. Isolation of a urinary digitalis-like factor indistinguishable from digoxin. *Biochem Biophys Res Commun* 1990;173(3):1093–1101.

61. Qazzaz HM, Goudy SL, Valdes R Jr. Deglycosylated products of endogenous digoxin-like immunoreactive factor in mammalian tissue. *J Biol Chem* 1996;271(15):8731–8737.

62. Huang BS, Kudlac M, Kumarathasan R, Leenen FH. Digoxin prevents ouabain and high salt intake-induced hypertension in rats with sinoaortic denervation. *Hypertension* 1999;34(4 Pt 2):733–738.

63. Goto A, Yamada K, Yagi N, Hui C, Sugimoto T. Digoxin-like immunoreactivity: is it still worth measuring? *Life Sci* 1991;49(23):1667–1678.

64. Meyer K and Linde H. Collection of toad venoms and chemistry of the toad venom steroids. In *Venomous animals and their venoms*, 521–556 (Eds Bucherl W and Buckley E) London: Academic Press 1971.

65. Chen KK, Kowarikowa A. Pharmacology and toxicology of toad venom. *J Pharmacol Sci* 1967;56:1535–1542.

66. Flier J, Edwards MW, Daly JW, Myers CW. Widespread occurrence in frogs and toads of skin compounds interacting with the ouabain site of Na⁺,K⁺-ATPase. *Science* 1980;208(4443):503–505.

67. Lichtstein D, Gati I, Babila T, Haver E, Katz U. Effect of salt acclimation on digitalis-like compounds in the toad. *Biochim Biophys Acta* 1991;1073(1):65–68.

68. Kieval RS, Butler VP Jr, Derguini F, Bruening RC, Rosen MR. Cellular electrophysiologic effects of vertebrate digitalis-like substances. *J Am Col Cardiol* 1988;11(3):637–643.

69. Goto A, Yamada K, Ishii M, Sugimoto T, Yoshioka M. Immunoreactivity of endogenous digitalis-like factors. *Biochem Pharmacol* 1991;41(8):1261–1263.

70. Numazawa S, Honma Y, Yamamoto T, Yoshida T, Kuroiwa Y. A cardiotonic steroid bufalin-like factor in human plasma induces leukemia cell differentiation. *Leuk Res* 1995;19(12):945–953.

71. Oda M, Kurosawa M, Numazawa S, Tanaka S, Akizawa T, Ito K et al. Determination of bufalin-like immunoreactivity in serum of humans and rats by time-resolved fluoroimmunoassay for using a monoclonal antibody. *Life Sci* 2001;68(10):1107–1117.

72. Sich B, Kirch W, Tepel M, Zidek W, Schoner W. Pulse pressure correlates in humans with a proinflammatory immunoreactive compound. *Hypertension* 1996;27(5):1073–1078.

73. Hilton PJ, White RW, Lord GA, Garner GV, Gordon DB, Hilton MJ et al. An inhibitor of the sodium pump obtained from human placenta. *Lancet* 1996;348(9023):303–305.

74. Bagrov AY, Roukoyatkina NI, Fedorova OV, Pinaev AG, Ukhanova MV. Digitalis-like and vasoconstrictor properties of endogenous digoxinlike factor from *Bufo marinus* toad. *Eur J Pharmacol* 1993;234(2-3):165–172.

75. Bagrov AY, Roukoyatkina NI, Pinaev AG, Dmitrieva RI, Fedorova OV. Effects of two endogenous digitalis-like factors, ouabain and marinobufagenin in isolated rat aorta. *Eur J Pharmacol* 1995;274(1-3):151–158.

76. Bagrov AY, Dmitrieva RI, Fedorova OV, Kazakov GP, Roukoyatkina NI, Shpen VM. Endogenous marinobufagenin-like immunoreactive substance: a possible endogenous Na,K-ATPase inhibitor with vasoconstrictor activity. *Am J Hypertens* 1996;9(10 Pt 1):982–990.

77. Ho CS, Butt A, Semra YK, Swaminathan R. Effect of carbidopa on the excretion of sodium, dopamine, and ouabain-like substance in the rat. *Hypertension* 1997;30(6):1544–1548.

78. Butt AN, Semra YK, Ho CS, Swaminathan R. Effect of high salt intake on plasma and tissue concentration of endogenous ouabain-like substance in the rat. *Life Sci* 1997;61(24):2367–2373.

79. Ludens JH, Clark MA, Kolbasa KP, Hamlyn JM. Digitalis-like factor and ouabain-like compound in plasma of volume expanded dogs. *J Cardiovasc Pharmacol* 1993;22 (Suppl 2):S38–S41.

80. Bagrov AY, Fedorova OV, Dmitrieva RI, French AW, Anderson DE. Plasma marinobufagenin-like and ouabain-like immunoreactivity during acute saline volume expansion in anesthetized dogs. *Cardiovasc Res* 1996;31(2):296–305.

81. Fedorova OV et al. Interaction of high sodium chloride intake and psychosocial stress on endogenous ligands of the sodium pump and blood pressure in normotensive rats. *Am J Physiol* 2001;281:R352–R358.

82. Fedorova OV et al. Differential effects of acute NaCl loading on endogenous ouabain-like and marinobufagenin-like ligands of the sodium pump in Dahl hypertensive rats. *Circulation* 2000;102:3009–3014.

83. Fedorova OV, Talan MI, Agalakova NI, Lakatta EG, Bagrov AY. An endogenous ligand of α -1 sodium pump, marinobufagenin, is a novel mediator of sodium chloride dependent hypertension. *Circulation* 2002;105(9):1122–1127.

84. Anderson DE, Fedorova OV, Morrell CH, Longo DL, Kashkin VA, Metzler JD et al. Endogenous sodium pump inhibitors and age-associated increases in salt sensitivity of blood pressure in normotensives. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 2008;294(4):R1248–R1254.

85. Ferrari P, Ferrandi M, Valentini G, Bianchi G. Rostafuroxin: an ouabain antagonist that corrects renal and vascular Na⁺-K⁺-ATPase alterations in ouabain and adducing dependent hypertension. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 2006;290(3):R529–R535.

86. Rossoni LV, Salaices M, Miguel M, Briones AM, Barker LA, Vassallo DV, Alonso MJ. Ouabain-induced hypertension is accompanied by increases in endothelial vasodilator factors. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2002;283(5):H2110–H2118.

87. Ferrandi M, Molinari I, Barassi P, Minotti E, Bianchi G, Ferrari P. Organ hypertrophic signaling within caveolae membrane subdomains triggered by ouabain and antagonized by PST 2238. *J Biol Chem* 2004;279(32):33306–33314.

88. Dostanic-Larson I, Van Huisse JW, Lorenz JN, Lingrel JB. The highly conserved cardiac glycoside binding site of Na,K-ATPase plays a role in blood pressure regulation. *Proc Natl Acad Sci USA* 2005;102(44):15845–15850.

89. Briones AM, Xavier FE, Arribas SM, González MC, Rossoni LV, Alonso MJ, Salaices M. Alterations in structure and mechanics of resistance arteries from ouabain induced hypertensive rats. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2006;291(1):H193–H201.

90. Cheung WJ, Kent MA, El-Shahat E, Wang H, Tan J, White R, Leenen FH. Central and peripheral renin-angiotensin systems in ouabain-induced hypertension. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2006;291(2):H624–H630.

91. Rossoni LV, Xavier FE, Moreira CM, Falcochio D, Amanso AM, Tanoue CU et al. Ouabain-induced hypertension enhances left ventricular contractility in rats. *Life Sci* 2006;79(16):1537–1545.

92. Bianchi G, Tripodi G, Casari G, Salardi S, Barber BR, Garcia R et al. Two point mutations within the adducin genes are involved in blood pressure variation. *Proc Natl Acad Sci USA* 1994;91(9):3999–4003.

93. Efendiev R, Krmar RT, Ogimoto G, Zwiller J, Tripodi G, Katz AI et al. Hypertension-linked mutation in the adducin alpha-subunit leads to higher AP2-mu2 phosphorylation and impaired Na⁺K⁺-ATPase trafficking in response to GPCR signals and intracellular sodium. *Circ Res* 2004;95(11):1100–1108.

94. Zhang J, Lee MY, Cavalli M, Chen L, Berra-Romani R, Balke CW et al. Sodium pump α 2 subunits control myogenic tone and blood pressure in mice. *J Physiol* 2005;569(Pt 1):243–256.

95. Liu J, Kesiry R, Periyasamy SM, Malhotra D, Xie Z, Shapiro JI. Ouabain induces endocytosis of plasmalemmal Na/K-ATPase in LLC-PK1 cells by a clathrin-dependent mechanism. *Kidney Int* 2004;66(1):227–241.

96. Liu J, Liang M, Liu L, Malhotra D, Xie Z, Shapiro JI. Ouabain-induced endocytosis of the plasmalemmal Na/K-

- ATPase in LLC-PK1 cells requires caveolin-1. *Kidney Int* 2005;67(5):1844–1854.
97. 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.
98. Wang JG, Staessen JA, Messaggio E, Nawrot T, Fagard R, Hamlyn JM et al. Salt, endogenous ouabain and blood pressure interactions in the general population. *J Hypertens* 2003;21(8):1475–1481.
99. Ferrari P, Ferrandi M, Tripodi G, Torielli L, Padoani G, Minotti E et al. PST 2238: a new antihypertensive compound that modulates Na,K ATPase in genetic hypertension. *J Pharmacol Exp Ther* 1999;288(3):1074–1083.
100. Huang BS, Leenen FH. Brain 'ouabain' and angiotensin II in salt-sensitive hypertension in spontaneously hypertensive rats. *Hypertension* 1996;28:1005–1012.
101. Huang BS, Leenen FH. Both brain angiotensin II and 'ouabain' contribute to sympathoexcitation and hypertension in Dahl S rats on high salt intake. *Hypertension* 1998;32: 028–1033.
102. Fedorova OV, Zhuravin IA, Agalakova NI, Yamova LA, Talan MI, Lakatta EG, Bagrov AY. Intrahippocampal microinjection of an exquisitely low dose of ouabain mimics NaCl loading and stimulates a bufadienolide Na/K-ATPase inhibitor. *J Hypertens* 2007;25(9):1834–1844.
103. Fedorova OV, Agalakova NI, Talan MI, Lakatta EG, Bagrov AY. Brain ouabain stimulates peripheral marinobufagenin via angiotensin II signalling in NaCl loaded Dahl-S rats. *J Hypertens* 2005;23(8):1515–1523.
104. Takahashi H, Iyoda I, Takeda K, Sasaki S, Okajima H, Yamasaki H, Yoshimura M, Ijichi H. Centrally-induced vasopressor responses to sodium-potassium adenosine triphosphatase inhibitor, ouabain, may be mediated via angiotensin II in the anteroventral third ventricle in the brain. *Jpn Circ J* 1984;48(11):1243–1250.
105. Huang BS, Leenen FHH. Sympathoexcitatory and pressor responses to increased brain sodium and ouabain are mediated via brain ANGII. *Am J Physiol* 1996;270:H275–H280.
106. Huang BS, Van Vliet BN, Leenen FH. Increases in CSF [Na⁺] precede the increases in blood pressure in Dahl S rats and SHR on a high-salt diet. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2004;287(3):H1160–H1166.
107. Wang H, Leenen FH. Brain sodium channels and central sodium-induced increases in brain ouabain-like compound and blood pressure. *J Hypertens* 2003;21:1519–1524.
108. Amin MS, Wang HW, Reza E, Whitman SC, Tuana BS, Leenen FH. Distribution of epithelial sodium channels and mineralocorticoid receptors in cardiovascular regulatory centers in rat brain. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 2005;289(6): R1787–R1797.
109. Orlov SN, Mongin AA. Salt-sensing mechanisms in blood pressure regulation and hypertension. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2007;293:H2039–H2053.
110. Fedorova OV, Doris PA, Bagrov AY. Endogenous marinobufagenin-like factor in acute plasma volume expansion. *Clin Exp Hypertens* 1998;20(5-6):581–591.
111. Periyasamy SM, Liu J, Tanta F, Kabak B, Wakefield B, Malhotra D et al. Salt loading induces redistribution of the plasmalemmal Na/K-ATPase in proximal tubule cells. *Kidney Int* 2005;67(5):1868–1877.
112. Fedorova OV, Bagrov AY. Inhibition of Na/K ATPase from rat aorta by two Na/K pump inhibitors, ouabain and marinobufagenin: evidence of interaction with different alpha-subunit isoforms. *Am J Hypertens* 1997;10:929–935.
113. Dahl LK, Knudsen KD, Iwai J. Humoral transmission of hypertension: evidence from parabiosis. *Circ Res* 1969;24(5): (Suppl):S21–S33.
114. Liu J, Shapiro JI. Regulation of sodium pump endocytosis by cardiotonic steroids: Molecular mechanisms and physiological implications. *Pathophysiology* 2007;14:171–181.
115. Liu J, Periyasamy SM, Gunning W, Fedorova OV, Bagrov AY, Malhotra D et al. Effects of cardiac glycosides on sodium pump expression and function in LLC-PK1 and MDCK cells. *Kidney Int* 2002;62(6):2118–2125.
116. Oweis S, Wu L, Kiela PR, Zhao H, Malhotra D, Ghishan FK. Cardiac glycoside downregulates NHE3 activity and expression in LLC-PK1 cells. *Am J Physiol Renal Physiol* 2006;290(5):F997–F1008.
117. Cai H et al. () Regulation of apical NHE3 trafficking by ouabain-induced activation of basolateral Na/K-ATPase receptor complex. *Am J Physiol Cell Physiol* 2008;294:C555–C563.
118. Schrier RW, Abraham WT. Hormones and hemodynamics in heart failure. *N Engl J Med* 1999;341:577–585.
119. Schreiber V, Kölbel F, Stěpán J, Gregorová I, Pribyl T. Digoxin-like immunoreactivity in the serum of rats with cardiac overload. *J Mol Cell Cardiol* 1981;13(1):107–110.
120. Morise T, Okamoto S, Takasaki H, Ikeda M, Takeda R, Kiuti F, Tuda Y. Biological activity of partially purified digitalis-like substance and Na-K-ATPase inhibitor in rats. *Jpn Circ J* 1988;52(11):1309–1316.
121. Liu ZQ, Ma AQ, Zhang L, Yang DY. Intra-cellular electrolyte changes and levels of endogenous digoxin-like substance within the plasma in patients with congestive heart failure. *Int J Cardiol* 1990;27(1):47–53.
122. Gottlieb SS, Rogowski AC, Weinberg M, Krichten CM, Hamilton BP, Hamlyn JM. Elevated concentrations of endogenous ouabain in patients with congestive heart failure. *Circulation* 1992;86(2):420–425.
123. Manunta P, Stella P, Rivera R, Ciurlino D, Cusi D, Ferrandi M et al. Left ventricular mass, stroke volume, and ouabain-like factor in essential hypertension. *Hypertension* 1999;34(3):450–456.
124. Pierdomenico SD, Bucci A, Manunta P, Rivera R, Ferrandi M, Hamlyn JM et al. Endogenous ouabain and hemodynamic and left ventricular geometric patterns in essential hypertension. *Am J Hypertens* 2001;14(1):44–50.
125. Balzan S, Neglia D, Ghione S, D'Urso G, Baldacchino MC, Montali U, L'Abbate A. Increased circulating levels of ouabain-like factor in patients with asymptomatic left ventricular dysfunction. *Eur J Heart Fail* 2001;3(2):165–171.
126. Pitzalis MV, Hamlyn JM, Messaggio E, Iacoviello M, Forleo C, Romito R et al. Independent and incremental prognostic value of endogenous ouabain in idiopathic dilated cardiomyopathy. *Eur J Heart Fail* 2006;8(2):179–186.
127. Stella P, Manunta P, Mallamaci F, Melandri M, Spotti D, Tripepi G et al. Endogenous ouabain and cardiomyopathy in dialysis patients. *J Intern Med* 2008;263(3):274–280.
128. Fedorova OV, Talan MI, Agalakova NI, Lakatta EG, Bagrov AY. Coordinated shifts in Na/K-ATPase isoforms and their endogenous ligands during cardiac hypertrophy and failure in NaCl sensitive hypertension. *J Hypertens* 2004;22(2):389–397.
129. Akimova OA, Bagrov AY, Lopina OD, Kamernitsky AV, Tremblay J, Hamet P, Orlov SN. Cardiotonic steroids differentially affect intracellular Na⁺ and [Na⁺]/[K⁺] independent signaling in C7-MDCK cells. *J Biol Chem* 2005;280(1):832–839.
130. Neuss M, Crow MT, Chesley A, Lakatta EG. Apoptosis in cardiac disease what is it-how does it occur. *Cardiovasc Drugs Ther* 2001;15(6):507–523.
131. Mohmand B, Malhotra DK, Shapiro JI. Uremic cardiomyopathy: role of circulating digitalis like substances. *Front Biosci* 2005;10:2036–2044.
132. dleton RJ, Parfrey PS, Foley RN. Left ventricular hypertrophy in the renal patient. *J Am Soc Nephrol* 2001;12(5):1079–1084.
133. Kennedy D, Omran E, Periyasamy SM, Nadoor J, Priyadarshi A, Willey JC et al. Effect of chronic renal failure on cardiac contractile function, calcium cycling, and gene expression of proteins important for calcium homeostasis in the rat. *J Am Soc Nephrol* 2003;14(1):90–97.
134. Kennedy DJ, Elkareh J, Shidyak A, Shapiro AP, Smaili S, Mutgi K et al. Partial nephrectomy as a model for uremic cardiomyopathy in the mouse. *Am J Physiol Renal Physiol* 2008;294(2):F450–F454.

135. Elkareh J, Kennedy DJ, Yashaswi B, Vetteth S, Shidyak A, Kim EG et al. Marinobufagenin stimulates fibroblast collagen production and causes fibrosis in experimental uremic cardiomyopathy. *Hypertension* 2007;49(1):215–224.
136. Kennedy DJ, Vetteth S, Periyasamy SM, Kanj M, Fedorova L, Khouri S et al. Central role for the cardiotonic steroid marinobufagenin in the pathogenesis of experimental uremic cardiomyopathy. *Hypertension* 2006;47(3):488–495.
137. London GM. Left ventricular alterations and end-stage renal disease. *Nephrol Dial Transplant* 2002;17 (Suppl 1): S29–S36.
138. Gallery ED, Hunyor SN, Györy AZ. Plasma volume contraction: a significant factor in both pregnancy-associated hypertension (pre-eclampsia) and chronic hypertension in pregnancy. *Q J Med* 1979;48(192):593–602.
139. Masilamani S, Baylis. Pregnant rats are refractory to the natriuretic actions of ANP. *Am J Physiol* 1994;267:R1611–R1616.
140. Graves SW. The possible role of digitalis-like factors in pregnancy-induced hypertension. *Hypertension* 1987;10(5 Pt 2): I84–I86.
141. Graves SW, Valdes R Jr, Brown BA, Knight AB, Craig HR. Endogenous digoxin immunoreactive substance in human pregnancies. *J Clin Endocrinol Metab* 1984;58(4): 748–751.
142. Averina IV, Tapilskaya NI, Reznik VA, Frolova EV, Fedorova OV, Lakatta EG, Bagrov AY. Endogenous Na/K-ATPase inhibitors in patients with preeclampsia. *Cell Mol Biol (Noisy-le-grand)* 2006;52(8):19–23.
143. Goodlin RC. Antidigoxin antibodies in eclampsia. *N Engl J Med* 1988;318:518–519.
144. Adair CD, Buckalew V, Taylor K, Ernest JM, Frye AH, Evans C, Veille JC. Elevated endoxin-like factor complicating a multifetal second trimester pregnancy: treatment with digoxin-binding immunoglobulin. *Am J Nephrol* 1996;16(6):529–531.
145. Adair D et al. Effects of Fab digoxin-specific antibodies on mean arterial pressure in severe preeclampsia [abstract]. *Am J Hypertens* 1997;10:11A.
146. Di Grande A, Boura AL, Read MA, Malatino LS, Walters WA. Release of a substance from the human placenta having digoxin-like immunoreactivity. *Clin Exp Pharmacol Physiol* 1993;20(9):603–607.
147. Amler E, Cester N, Salvolini E, Staffolani R, Burkhard M, Mazzanti L et al. Human hypertensive placenta contains an increased amount of Na,K-ATPase with higher affinity for cardiac glycosides. *Cell Biol Int* 1994;18(7):723–727.
148. Dmitrieva RI, Bagrov AY, Lalli E, Sassone-Corsi P, Stocco DM, Doris PA. Mammalian bufadienolide is synthesized from cholesterol in the adrenal cortex by a pathway that is independent of cholesterol side chain cleavage. *Hypertension* 2000;36(3):442–448.
149. Fedorova OV, Kolodkin NI, Agalakova NI, Namikas AR, Bzhelyansky A, St-Louis J et al. Antibody to marinobufagenin lowers blood pressure in pregnant rats on a high NaCl intake. *J Hypertens* 2005;23(4):835–842.
150. Vu HV, Ianosi-Irimie MR, Pridjian CA, Whitbred JM, Durst JM, Bagrov AY et al. Involvement of marinobufagenin in a rat model of human preeclampsia. *Am J Nephrol* 2005;25(5):520–528.
151. LaMarca HL, Morris CA, Pettit GR, Nagowa T, Puschett JB. Marinobufagenin impairs first trimester cytotrophoblast differentiation. *Placenta* 2006;27(9-10):984–988.
152. Weidemann H, Salomon N, Avnit-Sagi T, Weidenfeld J, Rosen H, Lichtstein D. Diverse effects of stress and additional adrenocorticotrophic hormone on digitalis-like compounds in normal and nude mice. *J Neuroendocrinol* 2004;16(5):458–463.
153. Bauer N, Möller-Ehmsen J, Krümer U, Hambarchian N, Zobel C, Schwinger RH et al. Ouabain-like compound changes rapidly on physical exercise in humans and dogs: effects of beta-blockade and angiotensin-converting enzyme inhibition. *Hypertension* 2005;45(5):1024–1028.
154. Bagrov AY, Fedorova OV, Roukoyatkina NI, Zhabko EP. Effect of antidigoxin antibody on myocardial Na,K pump activity and on endogenous digoxin like factor in acute myocardial ischemia in rats. *Cardiovasc Res* 1993;27(6):1045–1050.
155. Grider G, El-Mallakh RS, Huff MO, Buss TJ, Miller J, Valdes R Jr. Endogenous digoxin-like immunoreactive factor (DLIF) serum concentrations are decreased in manic bipolar patients compared to normal controls. *J Affect Disord* 1999;54(3):261–267.
156. Goldstein I, Levy T, Galili D, Ovadia H, Yirmiya R, Rosen H, Lichtstein D. Involvement of Na(+), K(+)-ATPase and endogenous digitalis-like compounds in depressive disorders. *Biol Psychiatry* 2006;60(5): 491–499.
157. Bagrov YY, Dmitrieva NI, Manusova NB, Zvartau EE, Patkina NA, Bagrov AY. Involvement of endogenous digitalis-like factors in voluntary selection of alcohol by rats. *Life Sci* 1999;64(20):PL219–PL225.
158. Clerico A, Giampietro O. Is the endogenous digitalis-like factor the link between hypertension and metabolic disorders as diabetes mellitus, obesity and acromegaly? *Clin Physiol Biochem* 1990;8:153–168.
159. Chen S, Yuan C, Clough D, Schooley J, Haddy FJ, Pamnani MB. Role of digitalis-like substance in the hypertension of streptozotocin-induced diabetes in reduced renal mass rats. *Am J Hypertens* 1993;6(5 Pt 1):397–406.
160. Bagrov YY, Manusova NB, Egorova IA, Fedorova OV, Bagrov AY. Endogenous digitalis-like ligands and Na/K-ATPase inhibition in experimental diabetes mellitus. *Front Biosci* 2005;10:2257–2262.
161. Carroll JS, Seely EW, Tao QF, Graves SW. Digitalis-like factor response to hyperinsulinemia accompanying a euglycemic hyperinsulinemic clamp or oral glucose tolerance test. *Life Sci* 2001;69(7):829–837.
162. Weidemann H. Na/K-ATPase, endogenous digitalis like compounds and cancer development—a hypothesis. *Front Biosci* 2005;10:2165–2176.
163. Mijatovic T, Van Quaquebeke E, Delest B, Debeir O, Darro F, Kiss R. Cardiotonic steroids on the road to anti-cancer therapy. *Biochim Biophys Acta* 2007;1776(1): 32–57.
164. Ferrandi M, Barassi P, Molinari I, Torielli L, Tripodi G, Minotti E et al. Ouabain antagonists as antihypertensive agents. *Curr Pharm Des* 2005;11(25):3301–3305.
165. ClinicalTrials.gov. Efficacy of Rostafuroxin in the treatment of essential hypertension. [<http://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT00415038>] online 2006.
166. Finotti P, Palatini P. Canrenone as a partial agonist at the digitalis receptor site of sodium potassium-activated adenosine triphosphatase. *J Pharmacol Exp Ther* 1981;217:784–790.
167. de Mendonça M, Grichois ML, Pernollet MG, Wauquier I, Trouillet-Thormann B, Meyer P, Devynck MA, Garay R. Antihypertensive effect of canrenone in a model where endogenous ouabainlike factors are present. *J Cardiovasc Pharmacol* 1988;11(1):75–83.
168. Waldorff S, Buch J. Canrenoate—a spironolactone metabolite: acute cardiac effects in digitalized patients. *Eur J Cardiol* 1979;10:143–149.
169. Lam G et al. Antepartum administration of a digoxin immune Fab (Digibind®) improves renal function in patients with severe preeclampsia. *Proceedings of XVI congress of International Society for the Study of Hypertension in Pregnancy*. Washington DC 2008; 44:60.
170. Menezes JC, Troster EJ, Dichtchekian V. Digoxin antibody decreases natriuresis and diuresis in cerebral hemorrhage. *Intensive Care Med* 2003;29(12):2291–2296.
171. Fedorova OV et al. Reduction in myocardial PKC β_2 , Na/K-ATPase sensitivity to marinobufagenin and blood pressure in response to cicletanine. *Hypertension* 2003;41:505–511.
172. Fedorova OV, Agalakova NI, Morrell CH, Lakatta EG, Bagrov AY. ANP differentially modulates marinobufagenin-induced sodium pump inhibition in kidney and aorta. *Hypertension* 2006;48(6):1160–1168.