

Увеличенный Na^+/Li^+ обмен в эритроцитах больных гипертонической болезнью не обусловлен активацией Na^+, P_i котранспорта

С.В. Кольцова^{1,2}, О.А. Акимова^{2,3}, С.В. Котелевцев³, П. Хамет², С.Н. Орлов¹⁻³

¹ Научно-исследовательский институт общей патологии и патофизиологии РАМН, Москва, Россия

² Научно-исследовательский центр университета, Монреаль, Канада

³ Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, биологический факультет, Москва, Россия

Кольцова С.В. — младший научный сотрудник НИИ общей патологии и патофизиологии РАМН (НИИ ОПП РАМН); Акимова О.А. — старший научный сотрудник биологического факультета Московского государственного университета им. М.В. Ломоносова (МГУ им. М.В. Ломоносова) и НИИ ОПП РАМН, кандидат биологических наук; Котелевцев С.В. — ведущий научный сотрудник биологического факультета МГУ им. М.В. Ломоносова, доктор биологических наук; Хамет П. — заведующий лабораторией молекулярной медицины Научно-исследовательского центра госпиталя университета г. Монреаль, профессор медицины; Орлов С.Н. — заведующий лабораторией физико-химии биомембран биологического факультета МГУ им. М.В. Ломоносова, главный научный сотрудник НИИ ОПП РАМН, доктор биологических наук, профессор, заведующий лабораторией патофизиологии нарушений ионного транспорта Научно-исследовательского центра госпиталя университета г. Монреаль, профессор медицины.

Контактная информация: Научно-исследовательский центр университета, Монреаль, Канада. Тел.: (514) 890-80-00, 23615. Факс: (514) 412-76-38. E-mail: sergei.n.orlov@umontreal.ca (Орлов Сергей Николаевич).

Резюме

Цель исследования. Известно, что активность Na^+/Li^+ противотранспорта (NLC) увеличена в эритроцитах части больных гипертонической болезнью. Молекулярная природа этого ионного переносчика остается неизвестной. Так как неорганический фосфат (P_i) ингибирует Na^+ -зависимый выход Li^+ , было выдвинуто предположение, что NLC опосредован изоформой Na^+, P_i котранспортера (NPC), экспрессированной в эритроцитах человека. В данной работе мы проверяем эту гипотезу. **Материалы и методы.** NLC измеряли как Na^+ -зависимую компоненту скорости выхода Li^+ из эритроцитов человека, крысы и кролика. Скорость NPC определяли в присутствии ингибиторов анионного обменника как Na^+ -зависимую компоненту скорости входа $^{32}\text{P}_i$. **Результаты.** NLC был ниже уровня достоверной детекции у крысы, но в ~50 раз выше у кролика по сравнению с человеком. В отличие от NLC, активность NPC у крысы, человека и кролика соотносилась как 1:2:6 и не зависела от нагрузки эритроцитов Li^+ . **Выводы.** Соотношение активностей NLC:NPC в эритроцитах крысы, человека и кролика резко различается. Полученные результаты свидетельствуют о том, что увеличенный NLC при гипертонической болезни не обусловлен активацией NPC. Эти данные также предполагают, что сравнительный транскриптомикс митохондриальной рибонуклеиновой кислоты (мРНК) ионных переносчиков в ретикулоцитах крысы, человека и кролика может быть использован для идентификации молекулярной природы NLC.

Key words: Na^+/Li^+ противотранспорт, Na^+, P_i котранспорт, гипертоническая болезнь.

Increased Na^+/Li^+ exchange in erythrocytes of patients with essential hypertension is not caused by activation of Na^+, P_i cotransport

S.V. Koltsova^{1,2}, O.A. Akimova^{2,3}, S.V. Kotelevtsev³, P. Hamet², S.N. Orlov¹⁻³

¹ Institute of General Pathology and Pathophysiology, Russian Academy of Medical Sciences, Moscow, Russia

² Research Centre of University of Montreal Hospital (CHUM), Montreal, Canada

³ M.V. Lomonosov Moscow State University, Faculty of Biology, Moscow, Russia

Corresponding author: Centre de recherche, CHUM — Technopôle Angus, 2901 Rachel est, Montreal, Quebec H1W 4A4, Canada. Phone: (514) 890-8000 ext 23615. Fax: (514) 412-7638. E-mail: sergei.n.orlov@umontreal.ca (Sergei N. Orlov, MD, PhD, Professor).

Abstract

Objective. Numerous studies demonstrated augmented activity of Na^+/Li^+ countertransport (NLC) in erythrocytes of patients with essential hypertension. Molecular origin of ion carrier underlying these abnormalities remains unknown. Because of inhibition of Na^+ -dependent Li^+ efflux by inorganic phosphate (P_i), it has been proposed that NLC is mediated by an isoform of Na^+, P_i cotransporter (NPC) expressed in human erythrocytes. Our study examines this hypothesis. **Design and methods.** NLC activity was measured as Na^+ -dependent component of Li^+ efflux from Li^+ -loaded erythrocytes isolated from human, rat and rabbit. NPC was estimated in the presence of inhibitors of anion exchanger as Na^+ -dependent $^{32}\text{P}_i$ influx.

Results. NLC activity was below detection limit in rat and ~50-fold higher in rabbit compared to human erythrocytes. In contrast to NLC, NPC in rat, human and rabbit erythrocytes was in proportion of 1:2:6. The loading of erythrocytes with Li^+ during hr, i.e. a step used for NLC measurement, did not affect the activity of NPC in erythrocytes from any species.

Conclusions. The ratio of NLC:NPC activities in rat, human and rabbit erythrocytes is sharply different. These results argue against involvement of NPC isoforms in augmented NLC seen in patients with essential hypertension. They also suggest that comparative transcriptomics of mRNA encoding ion carriers in human, rat and rabbit reticulocytes is a potent tool for identification of molecular origin of NLC.

Key words: Na^+/Li^+ countertransport, Na^+/P_i cotransporter, essential hypertension.

Статья поступила в редакцию: 24.03.10. и принята к печати: 06.04.10.

Более чем 30 лет назад A.W. Jones обнаружил увеличение ионной проницаемости изолированных сосудов крыс со спонтанной генетической гипертензией (spontaneously hypertensive rats — SHR) [1], являющихся экспериментальной моделью гипертонической болезни (ГБ) человека, в то время как Ю.В. Постновым с сотрудниками были представлены данные об увеличенной проницаемости для моновалентных катионов плазматической мембраны эритроцитов SHR и больных ГБ [2–3]. Более поздние исследования показали, что увеличенная в обоих случаях проницаемость плазматической мембраны обусловлена активацией ионных переносчиков, один из которых осуществляет односторонний перенос (симпорт) Na^+ , K^+ и Cl^- ($\text{Na}^+/\text{K}^+/\text{Cl}^-$ cotransport, NKCC), а другой обмен (противотранспорт) Na^+ на структурно близкий ему Li^+ (Na^+/Li^+ countertransport, NLC). Несколько позднее активация NLC была также выявлена в эритроцитах больных диабетической нефропатией. Сведения по этому вопросу суммированы в ряде обзоров [4–7].

Было установлено, что увеличенный NKCC опосредован активацией и/или повышенной экспрессией универсальной изоформы этого переносчика (NKCC1), ингибируемой петлевыми диуретиками и вовлеченной в поддержание повышенного артериального давления за счет регуляции тонуса гладкомышечных клеток сосудов [8]. В отличие от NKCC, молекулярная природа NLC, изначально обнаруженного в эритроцитах человека как Na^+ -стимулируемый выход Li^+ [9], остается неизвестной. Такого рода неопределенность обусловлена следующими обстоятельствами. (i) В отличие от NKCC и большинства других транспортеров, специфические ингибиторы NLC до сих пор не обнаружены. В самом деле такие соединения, как флоретин, фуросемид и хинидин, наряду с частичным подавлением NLC [9], в существенно более низких концентрациях блокируют Ca^{2+} -активируемые K^+ -каналы, NKCC и Na^+ -независимый транспорт глюкозы, опосредованный GLUT1. (ii) Проницаемость плазматической мембраны ядерных клеток для Na^+ на 2–3 порядка выше по сравнению с эритроцитами млекопитающих, что затрудняет измерение скорости Na^+ -зависимого выхода Li^+ в клетках гладкой мускулатуры сосудов и почечного эпителия, непосредственно вовлеченных в долгосрочную регуляцию артериального давления. (iii) Na^+ -стимулируемый выход Li^+ в эритроцитах крыс [10] и мышей (неопубликованные данные) существенно ниже, чем в эритроцитах человека, что затрудняет измерение NLC и использование приемов манипуляции генома, освоенных на этих животных, для установления молекулярной природы этого ионного переносчика.

Начиная с пионерских исследований, предпринятых в начале 80-х годов в лаборатории D.C. Tosteson (1980), данные об увеличенной активности NLC у больных ГБ и больных сахарным диабетом были представлены более чем в 500 публикациях и суммированы в ряде обзоров [5, 12–15]. Следует особо отметить, что кроме возможного вовлечения NLC в патогенез этих заболеваний, соли Li^+ как ингибиторы катаболизма полифосфоинозитидов нашли широкое применение в лечении маниакально-депрессивных расстройств — одной из самых распространенных болезней нервной системы в странах Европы и Северной Америки [16–17]. Предполагается, что терапевтическое действие Li^+ связано с его накоплением в клетках нервной системы посредством NLC. В этой связи установление молекулярной природы представляется актуальной задачей, имеющей большое медико-биологическое значение.

Наша группа была в числе первых исследователей, обнаруживших присутствие Na^+ -стимулируемой компоненты входа анионов неорганического фосфата (P_i — H_2PO_4^- и HPO_4^{2-}) в эритроцитах млекопитающих [18–19]. При проведении первых измерений активности NLC в эритроцитах больных ГБ [20] мы также обнаружили, что замена HEPES-tris на более дешевый фосфатный буфер приводит к фактически полному подавлению Na^+ -стимулируемой компоненты выхода Li^+ . Намного позже это наблюдение было воспроизведено в лаборатории R. Gunn (2003). В этой работе было также показано, что транспорт в P_i эритроцитах человека может быть активирован Li^+ . На основании этих результатов выдвинуто предположение, что NLC есть мода функционирования Na^+/P_i котранспорта (NPC), реализующаяся в отсутствие P_i и в присутствии Li^+ . В настоящей работе мы провели проверку этой гипотезы путем сопоставления активностей NLC и NPC в эритроцитах человека, крысы и кролика. В сокращенном виде результаты этих исследований были доложены на 23-м Конгрессе Международного общества по изучению гипертензии.

Материалы и методы

Образцы донорской крови человека, а также крыс линии Kyoto-Wistar и Новозеландских белых кроликов хранились не более 24 часов на льду в пробирках, содержащих 20–50 ед/мл гепарина. Ранее нами было установлено, что в этих условиях хранения крови не происходит достоверного изменения активности NLC и других ионных транспортеров [22]. В части экспериментов использовали кровь, полученную от 6 женщин с ГБ в возрасте от 50 до 65 лет с систолическим и диастолическим АД 214 ± 6 и 125 ± 4 мм рт. ст., проходивших

клиническое обследование, а также кровь 5 нормотензивных женщин того же возраста. Эритроциты осаждались и трижды промывались от плазмы и клеток крови *средой А*, содержащей 75 mM MgCl₂, 85 mM сахарозы и 10 mM HEPES-tris буфер (pH 7.4), и доводились той же *средой* до гематокрита 50 %.

Для измерения NLC использовали метод, разработанный в лаборатории D.C. Tosteson [11], с небольшими изменениями, описанными нами ранее [10]. С этой целью 100 мкл суспензии эритроцитов помещали в 1,25 мл *среды В*, содержащей 150 mM LiCl, 10 mM глюкозы и 10 mM HEPES-tris буфер (pH 7.4). После трехчасовой инкубации при 37 °C эритроциты осаждали и смешивали с 1 мл *среды С*, содержащей 75 mM MgCl₂, 85 mM сахарозы, 10 mM HEPES-tris буфер (pH 7.4) и 100 мкМ убаина, или *среды D*, содержащей 150 mM NaCl, 10 mM HEPES-tris буфер (pH 7.4) и 100 мкМ убаина. После 1 часа инкубации при 37 °C эритроциты осаждали, и содержание лития в среде инкубации определяли с помощью атомно-абсорбционного спектрофотометра AA 855 (Nippon Jarrel, Japan). Скорость NLC вычисляли как разность между количеством Li⁺, вышедшего из эритроцитов в *среду D* и *С*.

NPC измеряли как Na⁺-зависимую компоненту скорости входа ³²P_i. Для этого 200 мкл суспензии эритроцитов инкубировали 3 часа при 37 °C в *среде Е* или *В*. *Среда Е* содержала 140 mM NaCl, 5 mM KCl, 1 mM MgCl₂, 1 mM CaCl₂, 1 mM Na₂HPO₄, 5 mM глюкозы и 20 mM HEPES-tris (pH 7.4). Эритроциты осаждали, промывали *средой А* и смешивали с 250 мкл *среды F*, содержащей 140 mM NaCl, 5 mM KCl, 1 mM MgCl₂, 1 mM CaCl₂, 0,1 mM K₂HPO₄, 5 mM глюкозы, 20 mM HEPES-tris (pH 7.4) и 1 мкМ/мл ³²P, *среды F*, содержащей 50 мкМ ингибитора анионного обменника DIDS, или *среды G*, где, наряду с добавлением DIDS (4,4'-diisothiocyanostilbene-2,2'-disulfonic acid), NaCl был эквимольно замещен на холинхлорид. После

30 мин. инкубации при 37 °C, эритроциты осаждались, трижды промывались холодной *средой А* и лизировались добавлением 1 мл 10 % трихлоруксусной кислоты в 0,5 % тритоне X100. После осаждения белков радиоактивность супернатанта измеряли на сцинтиляционном счетчике и скорость входа P_i (*V*, мкмоль на литр клеток в час) вычисляли как $V = A/amt$, где *A* — радиоактивность образцов (срм), *a* — удельная радиоактивность P_i в среде инкубации (срм/мкмоль), *m* — объем эритроцитов в пробе (литр), *t* — время инкубации (0,5 часа). Активность NPC вычисляли как величину Na⁺-зависимой DIDS-нечувствительной компоненты скорости входа P_i. Убаин и DIDS были получены от Sigma (St. Louis, MO); ³²P-ортофосфорная кислота Dupont (Boston, MA) и Изотоп (Россия). Все другие реактивы, использованные в работе, были производства Sigma и Anachemia (Montreal, PQ). Анализ достоверности полученных результатов проводился с использованием t-теста Стьюдента.

Результаты

Активность NLC в эритроцитах человека, крысы и кролика

Активность NLC в эритроцитах крысы была на порядок ниже чем в эритроцитах человека и находилась на пороге чувствительности метода измерения (табл. 1), что соответствовало данным, полученным нами ранее [10]. Напротив, активность NLC в эритроцитах кролика была в ~50 раз выше, чем в эритроцитах человека, и в ~400 раз превышала активность этого переносчика в эритроцитах крысы (табл. 1). По данным других исследователей, NLCT в эритроцитах кролика в 10–25 раз выше, чем в эритроцитах человека [23–25]. Известно, что в отсутствие Li⁺, NLC функционирует как Na⁺/Na⁺ обменник [9]. В связи с этим интересно отметить, что скорости Na⁺/Na⁺ обмена в эритроцитах крысы, человека и кролика, измеренные как компоненты скорости входа

Таблица 1

СКОРОСТЬ Na⁺/Li⁺ ПРОТИВОТРАНСПОРТА (NLC) В ЭРИТРОЦИТАХ ЧЕЛОВЕКА, КРЫСЫ И КРОЛИКА

Источник эритроцитов	NLC	
	мкмоль (литр клеток) ⁻¹ час ⁻¹	%, *
Человек (n = 8)	212 ± 34	815
Крыса (n = 6)	26 ± 32	100
Кролик (n = 4)	11387 ± 987	43796

Примечание: Активность NLC определяли как Na⁺-зависимую компоненту скорости выхода Li⁺. Приведены среднеарифметические значения и значения стандартной ошибки; * — скорость NLC в эритроцитах крысы принята за 100 %.

Таблица 2

СИСТЕМЫ, ВОВЛЕЧЕННЫЕ В ТРАНСПОРТ P_i В ЭРИТРОЦИТАХ

Источник эритроцитов	Ион-транспортующая система, мкмоль (литр клеток) ⁻¹ час ⁻¹		
	NPC	Анионный обменник	Неидентифицированные системы
Человек (n = 4)	35,0 ± 4,0	32,0 ± 4,7	1,8 ± 0,7
Крыса (n = 4)	17,6 ± 3,0	70,2 ± 3,0	2,4 ± 0,4
Кролик (n = 3)	100,2 ± 14,8	12,6 ± 4,3	4,6 ± 2,3

Примечание: Активность анионного обменника и NPC определяли как DIDS-чувствительную и Na⁺-независимую компоненту скорости входа ³²P_i соответственно. Активность неидентифицированных систем входа ³²P_i определяли в отсутствии Na⁺ и в присутствии DIDS. Приведены среднеарифметические значения и значения стандартной ошибки.

^{22}Na , ингибируемые флоретином, соотносились как 1:6:30 [26], что также указывает на резкие межвидовые отличия активности переносчика, осуществляющего NLC.

NPC и другие системы, осуществляющие транспорт P_i в эритроцитах человека, крысы и кролика

Во всех исследованных случаях более 95 % от общего входящего потока P_i осуществлялось NPC и анионным обменником (табл. 2). Активность NPC в эритроцитах кролика была в 3 раза выше, чем в эритроцитах человека, и в 5 раз выше, чем в эритроцитах крысы. Напротив, активность анионного обменника была выше в эритроцитах крысы по отношению к эритроцитам человека и кролика. Следует отметить, что двухкратная активация анионного обменника в эритроцитах крысы по сравнению с эритроцитами человека, зарегистрированная в этом эксперименте как DIDS-чувствительная компонента скорости $^{32}\text{P}_i/\text{Cl}_i$ обмена, соответствует данным, полученным нами при измерении DIDS-чувствительной компоненты скорости $\text{OH}_i^-/\text{Cl}_i$ обмена [10]. Мы не обнаружили достоверного влияния нагрузки эритроцитов Li^+ в условиях, применяемых для измерения NLC, на активность NPC у всех 3 исследованных видов млекопитающих (табл. 3).

Активность NLC и NPC в эритроцитах больных гипертонической болезнью

Мы ограничили эту часть работы исследованиями 6 больных ГБ, у которых скорость NLC была увеличена в 1,5 раза по отношению к контрольной группе ($p < 0,02$). Различий в скорости NPC в эритроцитах гипертонических и нормотонических лиц не обнаружено (табл. 4).

Обсуждение

Несмотря на усилия многих лабораторий, молекулярная природа переносчика, осуществляющего Na^+/Li^+ обмен (NLC), активность которого увеличена у части больных ГБ и сахарным диабетом, остается не установленной. Убаин и буметанид не влияют на скорость NLC в эритроцитах человека [9], что свидетельствует

об отсутствии участия в Na^+/Li^+ обмене Na^+/K^+ -насоса и $\text{Na}^+/\text{K}^+/\text{2Cl}^-$ котранспорта. В отличие от Na^+/H^+ обмена (NHE), NLC в эритроцитах человека и кролика не ингибируется амилоридом и не активируется при сжатии клеток или при закислении среды инкубации [27–28], что указывает на отсутствие участия в транспорте Li^+ универсальной изоформы этого переносчика NHE1. G. Zerbini с соавт. (2003) обнаружили в эритроцитах человека особую альтернативно сплайсированную изоформу NHE1, не чувствительную к амилориду [29]. Однако эти данные, так же как и участие этой транскрибированной изоформы NHE1 в NLC, до сих пор не подтверждены другими исследователями.

На основании ингибирования солями ортофосфорной кислоты Na^+ -зависимой компоненты выхода Li^+ и стимуляции литием входа ^{32}P было выдвинуто предположение, что NLC опосредуется NPC [21]. В геноме человека обнаружены 4 изоформы NPC, кодируемые 4 генами: SLC17 или NaPi-I, SLC34A1 или NaPi-IIa, SLC34A2 или NaPi-IIb и SLC20 или PiT-1 [30–32]. В клетках человека K562, используемых как наиболее адекватная культуральная модель ретикулоцитов, была обнаружена РНК SLC17 и SLC20 [33]. R.T. Timmer и R.B. Gunn (2003) были также получены антитела, которые регистрировали наличие SLC17 в K562 клетках при очень слабом сигнале в эритроцитах человека [33].

Приведенные выше данные позволяли сформулировать гипотезу о том, что Na^+/Li^+ обмен опосредован SLC17 и/или SLC20NPC и что увеличенный NLC в эритроцитах больных ГБ указывает на возможность вовлечения NPC в патогенез ГБ и диабетической нефропатии через увеличенную реабсорбцию Na^+ и P_i в клетках эпителия почечных канальцев, апикальная и базолатеральная мембрана которых обогащены продуктами трансляции SLC17 и SLC20 соответственно [30]. Данные, полученные в настоящей работе, противоречат этой привлекательной гипотезе. Действительно, активности NLC в эритроцитах крысы, человека и кролика соотносились как ~1:8:440 (табл. 1), что резко отличалось от соотношения активностей NPC

Таблица 3

АКТИВНОСТЬ Na^+/P_i КОТРАНСПОРТА (NPC) В КОНТРОЛЬНЫХ И НАГРУЖЕННЫХ Li^+ ЭРИТРОЦИТАХ

Источник эритроцитов	Контрольные эритроциты		Эритроциты, нагруженные Li^+	
	мкмоль (литр клеток) $^{-1}$ час $^{-1}$	%, *	мкмоль (литр клеток) $^{-1}$ час $^{-1}$	%, *
Человек (n = 4)	33,0 ± 2,1	168	36,2 ± 2,7	168
Крыса (n = 4)	19,6 ± 3,4	100	21,6 ± 1,8	100
Кролик (n = 3)	99,7 ± 10,1	509	104,7 ± 9,3	485

Примечание: Приведены среднеарифметические значения и значения стандартной ошибки; * — скорость NPC в эритроцитах крысы принята за 100 %.

Таблица 4

СКОРОСТЬ Na^+/Li^+ ПРОТИВОТРАНСПОРТА (NLC) И Na^+/P_i КОТРАНСПОРТА (NPC) В ЭРИТРОЦИТАХ КОНТРОЛЬНОЙ ГРУППЫ И БОЛЬНЫХ ГИПЕРТОНИЧЕСКОЙ БОЛЕЗНЬЮ

Источник эритроцитов	NLC, мкмоль (литр клеток) $^{-1}$ час $^{-1}$	NPC, мкмоль (литр клеток) $^{-1}$ час $^{-1}$
1. Контроль (n = 5)	187 ± 21	36,0 ± 5,3
2. Гипертония (n = 6)	277 ± 23	32,1 ± 2,3
$\text{P}_{1,2}$	< 0,02	NS

Примечание: Приведены среднеарифметические значения и значения стандартной ошибки; NS — отличия недостоверны.

(~1:2:5 соответственно, табл. 3). Кроме того, увеличение NLC в эритроцитах больных ГБ не сопровождалось активацией NPC (табл. 4). Можно было бы предположить, что нагрузка Li^+ по разному влияет на активность NPC в эритроцитах исследованных видов млекопитающих. Однако нагрузка Li^+ до уровня, используемого для регистрации NLC, не влияла на активность NPC в эритроцитах всех трех видов млекопитающих (табл. 3).

Заключение

Таким образом, представленные результаты свидетельствуют о том, что увеличенный NLC при ГБ не обусловлен активацией NPC. Мы полагаем, что сравнение транскриптома ретикулоцитов и протеомический анализ мембранных белков эритроцитов человека, крысы и кролика, обладающих существенно разной активностью NLC, — наиболее целесообразный подход к идентификации молекулярной природы этого переносчика и его вовлечения в патогенез ГБ.

Исследования поддержаны грантом
Российского Фонда поддержки фундаментальных исследований (09-04-00646А).

Литература

1. Jones A.W. Altered ion transport in vascular smooth muscle from spontaneously hypertensive rats. Influence of aldosterone, norepinephrine and angiotensin // *Circ. Res.* — 1973. — Vol. 33, № 5. — P. 563–572.
2. Postnov Yu.V., Orlov S.N., Gulak P.V., Shevchenko A.S. Altered permeability of the erythrocyte membrane for sodium and potassium in spontaneously hypertensive rats // *Pflugers Archiv.* — 1976. — Vol. 365, № 2–3. — P. 257–263.
3. 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. — Vol. 371, № 3. — P. 263–269.
4. Postnov Yu.V., Orlov S.N. Ion transport across plasma membrane in primary hypertension // *Physiol. Rev.* — 1985. — Vol. 65, № 4. — P. 904–945.
5. Orlov S.N., Adragna N., Adarichev V.A., Hamet P. Genetic and biochemical determinants of abnormal monovalent ion transport in primary hypertension // *Am. J. Physiol.* — 1999. — Vol. 276, № 3, Pt. 1. — P. C511–C536.
6. Mead P.A., Wilkinson R., Thomas T.H. Na/Li countertransport abnormalities in type 1 diabetes with and without nephropathy are familial // *Diabetes Care.* — 2001. — Vol. 24, № 3. — P. 527–532.
7. Zerbini G., Gabellini D., Ruggieri D., Maestroni A. Increased sodium-lithium countertransport activity: a cellular dysfunction common to essential hypertension and diabetic nephropathy // *J. Am. Soc. Nephrol.* — 2004. — Vol. 15, Suppl. 1. — P. S81–S84.
8. Orlov S.N., Tremblay J., Hamet P. NKCC1 and hypertension: a novel therapeutic target involved in regulation of vascular tone and renal function // *Curr. Opin. Nephrol. Hypert.* — 2010. — Vol. 19, № 2. — P. 163–168.
9. Sarkadi B., Alifimoff J.K., Gunn R.B., Tosteson D.C. Kinetics and stoichiometry of Na-dependent Li transport in human red blood cells // *J. Gen. Physiol.* — 1978. — Vol. 72, № 2. — P. 249–265.
10. Orlov S.N., Postnov I.Yu., Pokudin N.I., Kukharencov V.Yu., Postnov Yu.V. Na⁺/H⁺ exchange and other ion transport systems in erythrocytes of essential hypertensives and spontaneously hypertensive rats // *J. Hypertens.* — 1989. — Vol. 7, № 10. — P. 781–788.
11. Canessa M.L., Adragna N., Solomon H.S., Connolly T.M., Tosteson D.C. Increased sodium-lithium countertransport in red cells of patients with essential hypertension // *N. Engl. J. Med.* — 1980. — Vol. 302, № 14. — P. 772–776.
12. Hardman T.C., Lant A.F. Controversies surrounding erythrocyte sodium-lithium countertransport // *J. Hypertens.* — 1996. — Vol. 14, № 6. — P. 695–703.
13. Orlov S.N. Hypertension // In: *Red cell membrane transport in health and disease* / Ed. by I. Bernhardt, J.C. Ellory. — Berlin: Springer, 2003. — P. 587–602.
14. Huot S.J., Aronson P.S. Na⁺-H⁺ exchanger and its role in essential hypertension and diabetes mellitus // *Diabetes Care.* — 1991. — Vol. 14, № 6. — P. 521–535.
15. Rutherford P.A., Thomas T.H., Wilkinson R. Erythrocyte sodium-lithium countertransport: clinically useful, pathophysiologically instructive or just phenomenology? // *Clin. Sci.* — 1992. — Vol. 82, № 4. — P. 341–352.
16. Baraban J.M., Worley P.F., Snyder S.H. Second messenger systems and psychoactive drug focus on the phosphoinositide system and lithium // *Am. J. Psychiatry.* — 1989. — Vol. 146, № 10. — P. 1251–1260.
17. Lenox R.H., Manji H.K. Lithium // In: *Textbook of psychopharmacology* / Ed. by A.F. Schatzberg, C.B. Nemeroff. — Washington DC: American Psychiatric Press, 1995. — P. 303–349.
18. Орлов С.Н., Покудин Н.И., Котелевцев Ю.В. Калиевые каналы, анионный транспорт и активность Na⁺-насосы мембраны эритроцитов: три различных механизма регуляции внутриклеточным кальцием // *Биохимия.* — 1987. — Т. 52. — С. 1373–1386.
19. Shoemaker D.G., Bender C.A., Gunn R.B. Sodium-phosphate cotransport in human red blood cells // *J. Gen. Physiol.* — 1988. — Vol. 92, № 4. — P. 449–474.
20. Люсов В.А., Постнов И.Ю., Орлов С.Н., Ряжский Г.Г. Различия в скорости Na/Li-противотранспорта в мембране эритроцитов при гипертонической болезни и почечной гипертензии // *Кардиология.* — 1983. — Т. 23, № 8. — С. 24–26.
21. Elmiah S., Gunn R.B. Kinetic evidence that the Na-PO₄ cotransporter is the molecular mechanism for Na/Li exchange in human red blood cells // *Am. J. Physiol. Cell. Physiol.* — 2003. — Vol. 285, № 2. — P. C446–C456.
22. Кобаль А.М., Орлов С.Н., Покудин Н.И., Кухаренко В.Ю., Постнов Ю.В. Модификация ион-транспортирующих систем эритроцитов человека при хранении // *Бюлл. эксп. биол. мед.* — 1990. — Т. 110. — С. 151–153.
23. Duhm J., Becker B.F. Studies on lithium transport across the red cell membrane. V. On the nature of the Na⁺-dependent Li⁺ countertransport system of mammalian erythrocytes // *J. Membrane Biol.* — 1979. — Vol. 51, № 3–4. — P. 263–286.
24. Thomas T.H., Rutherford P.A., Vareseangthip K., Wilkinson R., West I.C. Erythrocyte membrane thiol proteins associated with changes in the kinetics of Na/Li countertransport: a possible molecular explanation of changes in disease // *Eur. J. Clin. Invest.* — 1998. — Vol. 28, № 4. — P. 259–265.
25. Kahn A.M. Differences between human red blood cell Na⁺-Li⁺ countertransport and renal Na⁺-H⁺ exchange // *Hypertension.* — 1987. — Vol. 9, № 1. — P. 7–12.
26. Орлов С.Н., Кузнецов С.П., Колосова И.А., Макаров В.И. Na⁺/H⁺ и Na⁺/Na⁺ противотранспорт в эритроцитах человека, кролика и крысы: доказательство наличия двух независимых ионотранспортирующих систем // *Биохимия.* — 1994. — Т. 59. — С. 639–647.
27. Orlov S.N., Kuznetsov S.R., Pokudin N.I., Tremblay J., Hamet P. Can we use erythrocytes for the study of the activity of ubiquitous Na⁺-H⁺ exchanger (NHE-1) in essential hypertension? // *Am. J. Hypertens.* — 1998. — Vol. 11, № 7. — P. 774–783.
28. Jennings M.L., Adams-Lackey M., Cook K.W. Absence of significant sodium-hydrogen exchange by rabbit erythrocyte sodium-lithium countertransport // *Am. J. Physiol.* — 1985. — Vol. 249, № 1, Pt. 1. — P. C63–C68.
29. Zerbini G., Maestroni A., Breviaro D., Mangili R., Casari G. Alternative splicing of NHE-1 mediates Na-Li countertransport and associates with activity rate // *Diabetes.* — 2003. — Vol. 52, № 6. — P. 1511–1518.
30. Murer H., Hernando N., Forster I., Biber J. Proximal tubular phosphate reabsorption: molecular mechanisms // *Physiol. Rev.* — 2000. — Vol. 80, № 4. — P. 1373–1409.
31. Virkki L.V., Biber J., Murer H., Forster I.C. Phosphate transport: a tale of two solute carrier families // *Am. J. Physiol. Renal Physiol.* — 2007. — Vol. 293, № 3. — P. F643–F654.
32. Reimer R.J., Edwards R.H. Organic anion transport is the primary function of the SLC17/type I phosphate transport family // *Pflugers Arch. Eur. J. Physiol.* — 2004. — Vol. 447, № 5. — P. 629–635.
33. Timmer R.T., Gunn R.B. The molecular basis for Na-dependent phosphate transport in human erythrocytes and K562 cells // *J. Gen. Physiol.* — 2000. — Vol. 116, № 3. — P. 363–378.