

ISSN 1607-419X

ISSN 2411-8524 (Online)

УДК 612.015.31:616.12-008.331.1

Котранспорт натрия, калия и хлора как регулятор сосудистого тонуса: роль в патогенезе системной и легочной гипертензии

С. Н. Орлов^{1,2}, С. В. Гусакова²

¹ Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Московский государственный университет имени М. В. Ломоносова», Москва, Россия

² Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Сибирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Томск, Россия

Контактная информация:

Орлов Сергей Николаевич,
ФГБОУ ВО МГУ
им. М. В. Ломоносова,
Воробьевы горы, д. 1, корп. 12,
Москва, Россия, 199899.
E-mail: sergeinorlov@yandex.ru

Статья поступила в редакцию
13.05.17 и принята к печати 24.05.17.

Резюме

В обзоре рассматриваются механизмы вовлечения универсальной изоформы переносчика, осуществляющего электронейтральный симпорт натрия, калия и хлора (Na^+ , K^+ , 2Cl^- -котранспорт — NKCC1) в регуляцию сокращения гладких мышц сосудов большого и малого кругов кровообращения и патогенез эссенциальной и легочной гипертензии. Особое внимание уделено возможности использования NKCC1 как новой мишени для нормализации кровяного давления. В этой связи рассмотрены данные об ингибировании петлевыми диуретиками — селективными ингибиторами NKCC1 — миогенного ответа резистентных сосудов большого круга кровообращения и афферентной артериолы почки, а также о действии ингаляционных форм этих соединений на гладкомышечные клетки воздухопроводящих путей.

Ключевые слова: котранспорт натрия, калия и хлора, NKCC1, гладкие мышцы сосудов, сокращение, миогенный ответ, гипертензия

Для цитирования: Орлов С. Н., Гусакова С. В. Котранспорт натрия, калия и хлора как регулятор сосудистого тонуса: роль в патогенезе системной и легочной гипертензии. Артериальная гипертензия. 2017;23(5):360–372. doi: 10.18705/1607-419X-2017-23-5-360-372

Cotransporter of sodium, potassium and chloride as a regulator of vascular tone: role in the pathogenesis of systemic and pulmonary hypertension

S.N. Orlov^{1,2}, S.V. Gusakova²

¹ Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russia

² Siberian Medical State University, Tomsk, Russia

Corresponding author:

Sergey N. Orlov,
Lomonosov Moscow State University,
1/12 Vorob'evy gory, Moscow,
199899 Russia.
E-mail: sergeinorlov@yandex.ru

Received 13 May 2017;
accepted 24 May 2017.

Abstract

This review summarizes the data on the implication of ubiquitous isoform of the carrier providing electroneutral symport of sodium, potassium and chloride (Na^+ , K^+ , 2Cl^- -cotransport — NKCC1) in the regulation of smooth muscle contraction in the systemic and pulmonary circulation and its involvement in the pathogenesis of systemic (essential) and pulmonary hypertension with the special emphasis on the usage of NKCC1 as a novel antihypertensive target. In this connection we consider the data on the attenuation of the myogenic tone in the resistant vessels of the systemic circulation and afferent arteriole of the kidney as well as the action of inhaled loop diuretic on the contraction of the airway smooth muscle cells.

Key words: cotransport of sodium, potassium and chloride, NKCC1, vascular smooth muscle, contraction, myogenic response, hypertension

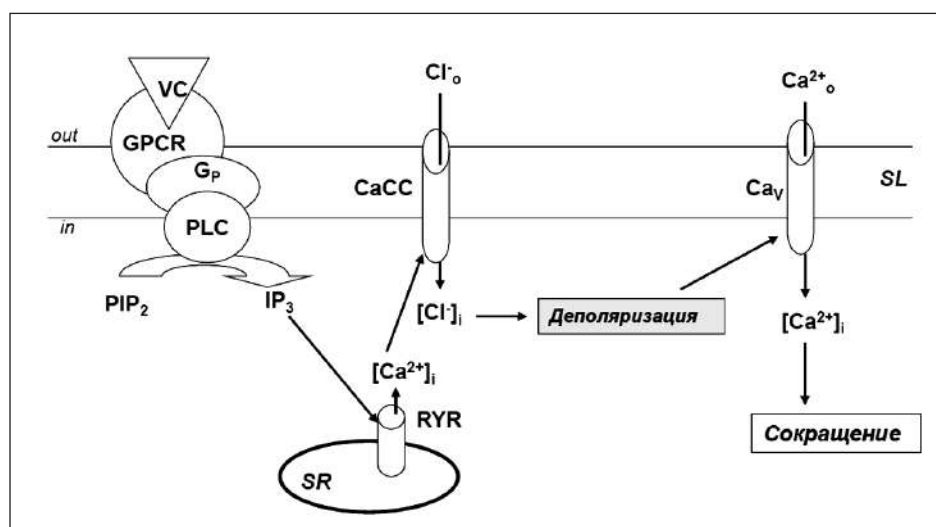
For citation: Orlov SN, Gusakova SV. Cotransporter of sodium, potassium and chloride as a regulator of vascular tone: role in the pathogenesis of systemic and pulmonary hypertension. *Arterial'naya Gipertenziya = Arterial Hypertension*. 2017;23(5):360–372. doi:10.18705/1607-419X-2017-23-5-360-372

Котранспортеры катионов и хлора (cation-chloride cotransporters — CCC) относятся к группе ионных переносчиков (solute carriers — SLC), осуществляющих транспорт ионов через биологические мембраны, используя для этого энергию электрохимических градиентов катионов, запасенную за счет работы Na^+ , K^+ -насоса. CCC относятся к SLC12 семейству, включающему Na^+ , Cl^- -котранспорт (NCC), кодируемый единичным геном (*SLC12A3*), Na^+ , K^+ , 2Cl^- -котранспорт (NKCC), кодируемый двумя генами: *SLC12A2* (NKCC1) и *SLC12A1* (NKCC2), и K^+ , Cl^- -котранспорт (KCC), кодируемый *SLC12A4* (KCC1), *SLC12A5* (KCC2), *SLC12A6* (KCC3) и *SLC12A7* (KCC4). NKCC ингибируется буметанидом, фуросемидом и родственными им соединениями, получившими название

петлевых диуретиков. Свое название эти соединения получили по первоначально установленному месту их действия как ингибиторов реабсорбции соли в восходящем отделе петли Генле почечного канальца, опосредованного NKCC2. NCC локализован в дистальном отделе нефрона и его функционирование подавляется производными тиазида. В отличие от NKCC и NCC, специфических ингибиторов KCC до сих пор не обнаружено. Сведения о структуре генов, мембранной архитектуре и регуляции экспрессии и активности CCC в полной мере рассмотрены в ряде обзоров [1–5].

В предыдущих работах мы рассмотрели механизмы вовлечения NKCC1 и NKCC2 в патогенез системной артериальной гипертензии (АГ) и осложнений, связанных с этой болезнью [6–10]. Известно,

Рисунок 1. Механизм вовлечения Ca^{2+} -активируемых Cl^- каналов (CaCC) в регуляцию сокращения гладкомышечных клеток сосудов



Примечание: норадреналин, эндотелин 1, ангиотензин II и другие вазоконстрикторы (VC) взаимодействуют с GPCR рецепторами, сопряженными с ГТФ-связывающими белками (G_p), что приводит к активации фосфолипазы C (PLC), гидролизу фосфоинозитолдифосфата (PIP_2) и накоплению инозитолтрифосфата (IP_3). IP_3 , взаимодействуя с рианодиновыми рецепторами (RYR), вызывает высвобождение Ca^{2+} из саркоплазматического ретикула (SR), прирост $[\text{Ca}^{2+}]_i$, открытие CaCC и деполяризацию сарколеммы (SL), что в свою очередь вызывает открытие потенциал-зависимых Ca^{2+} каналов (Ca_V) и сокращение ГМК.

однако, что регуляции кровообращения в различных отделах этой системы существенно различаются, что во многом обусловлено специфическим набором ион-транспортующих систем гладкомышечных клеток (ГМК) сосудов [11]. В этой связи мы сфокусировали наш обзор на особенностях вовлечения NKCC1 в регуляцию сосудистого тонуса большого и малого кругов кровообращения и патогенез артериальной и легочной гипертензии.

Ключевая роль анионных каналов в регуляции сокращения гладкой мускулатуры

В отличие от доминирующей роли проводимости плазматической мембраны для K^+ (P_K) в формировании электрического сопротивления и потенциала (E_m) покоящихся клеток скелетной и сердечной мускулатуры, значения P_K и P_{Cl} в ГМК различаются незначительно [12]. Это наблюдение предполагает существенную роль анионных каналов в регуляции сокращения ГМК. В самом деле, сокращение ГМК сосудов, изолированных как из большого, так и малого круга кровообращения, подавлялось такими ингибиторами анионных каналов, как нифлумовая кислота (niflumic acid), флуфенаминовая кислота (flufenamic acid), инданилоксиуксусная кислота (indanyloxyacetic acid, IAA-94), производные стильбендисульфоновой кислоты (SITS, DIDS). Следует, однако, отметить, что эти соединения обладают низкой селективностью, и основные успехи в идентификации молекулярной природы анионных каналов были достигнуты с применением

молекулярно-биологических подходов. Эти исследования привели к обнаружению в клетках гладкой мускулатуры двух типов Ca^{2+} -активируемых Cl^- каналов (CaCC), кодируемых трансмембранным белком 16 (TMEM16A/anoctamin (ANO) и бестрофином (bestrophin), объем-зависимых Cl^- каналов (volume-regulated anion channels VRAC), кодируемых SWELL1/LRRC8 A и Cl^- каналов CFTR (cystic fibrosis transmembrane regulator), нарушение функционирования которых в эпителиальных клетках лежит в основе патогенеза мукополивисцидоза. Рецепторы глицина и γ -аминобутириновой кислоты (GABA), равно как и другие лиганд-зависимые Cl^- каналы, в ГМК не обнаружены [13].

Было высказано предположение, что транзиторное увеличение концентрации внутриклеточного кальция ($[\text{Ca}^{2+}]_i$) в ответ на активацию норадреналином, эндотелином, ангиотензином и другими вазоконстрикторами рецепторов, связанных с G-белками, приводит к активации CaCC, что в свою очередь вызывает деполяризацию сарколеммы и вход кальция через потенциал-зависимые Ca^{2+} каналы (рис. 1). В самом деле, было установлено, что подавление как экспрессии, так и активности CaCC снижает тонус изолированных сосудов большого и малого кругов кровообращения (детально эти исследования рассмотрены в обзорах [13–15]). Роль P_{Cl} и Cl^- каналов в регуляции сосудистого тонуса также подтверждается данными, полученными *in vivo*. Так, например, было обнаружено, что как содержание TMEM16A мРНК, так и Ca^{2+} -

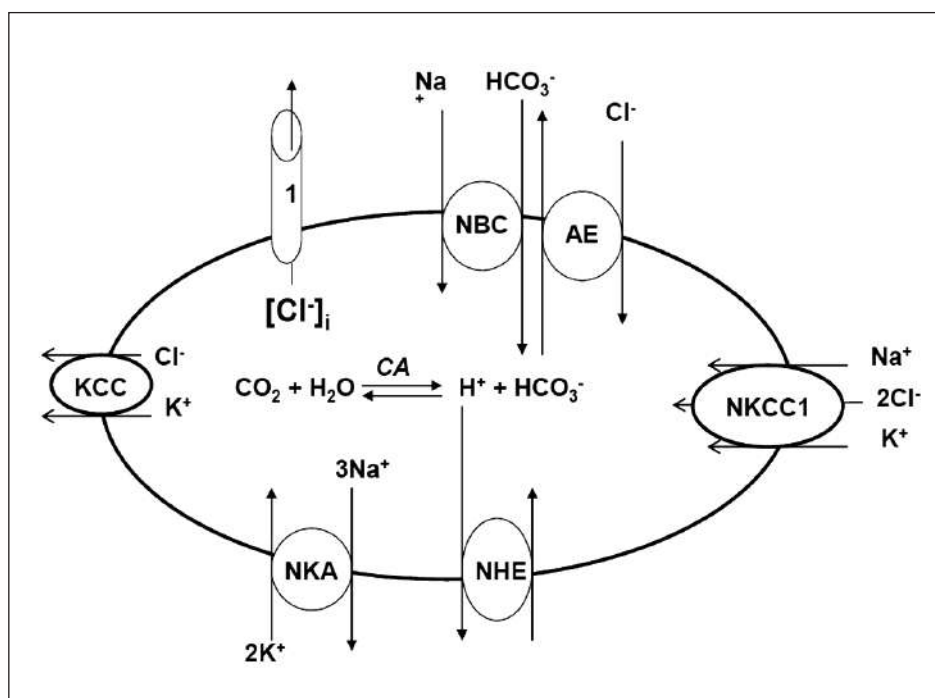
зависимая компонента P_{Cl} увеличены в легочной артерии крыс с экспериментальной легочной гипертензией [16, 17], в то время как подавление экспрессии TMEM16A, ограниченное ГМК, приводило к уменьшению системного артериального давления (АД) и меньшего его прироста в ответ на инъекцию ангиотензина [18].

Механизм регуляции внутриклеточной концентрации хлора в клетках гладкой мускулатуры сосудов

Вовлечение анионных каналов в регуляцию сокращения ГМК предполагает, что сокращение ГМК должно также контролироваться транспортерами, принимающими участие в регуляции внутриклеточной концентрации хлора ($[Cl^-]_i$). Во всех исследовавшихся на этот предмет ГМК обнаружена универсальная изоформа Na^+ , K^+ , $2Cl^-$ -котранспорта (NKCC1) [19, 20] и две изоформы K^+ , Cl^- -котранспорта (KCC1 и KCC3) [21]. Как отмечалось выше, КСС генерируют как входящие, так и выходящие потоки Cl^- , и направленность их нетто-потоков зависит от трансмембранного градиента котранспортируемых ионов, создаваемых Na^+ , K^+ -АТФ-азой, стехиометрии переноса. При стехиометрии переноса

1:1 величина ионных потоков находится в линейной зависимости от концентрации котранспортируемых ионов. Так как $[K^+]_i \gg [K^+]_o$, а $[Cl^-]_o > [Cl^-]_i$, нетто-поток хлора, генерируемый КСС, направлен из клетки (рис. 2). NKCC функционирует со стехиометрией $1Na^+:1K^+:2Cl^-$. В этом случае $[Cl^-]_i^2 \gg [Cl^-]_o^2$ и потому в большинстве типов клеток, включая ГМК, нетто-поток хлора, опосредованный этим переносчиком, направлен в цитоплазму (рис. 2). Предполагается, что наряду с NKCC и КСС в регуляции $[Cl^-]_i$ принимает участие сопряженная работа переносчиков, осуществляющих Na^+/H^+ и анионный обмен. В самом деле, Na^+/H^+ обменник способствует защелачиванию цитоплазмы, что в свою очередь приводит к накоплению анионов бикарбоната в реакции, катализируемой карбоксиангидразами, в то время как анионные обменники (АЕ) осуществляют трансмембранный перенос HCO_3^- в обмен на внеклеточный хлор. Установлено, что ГМК обогащены универсальной изоформой Na^+/H^+ обменника NHE1 (*SLC9A1*) [22] и двумя изоформами анионного обменника AE2 (*SLC4A2*) и AE3 (*SLC4A2*) [23]. Кроме того, в ГМК обнаружен переносчик NBCn1 (*SLC4A7*), осуществляющий электронейтральный импорт HCO_3^- и Na^+ (рис. 2) [22].

Рисунок 2. Ион-транспортирующие системы ГМК, принимающие участие в регуляции внутриклеточной концентрации хлора ($[Cl^-]_i$)



Примечание: функционирование NKCC и КСС способствует накоплению и высвобождению Cl^- соответственно. Карбоксиангидраза (CA) контролирует накопление протонов и бикарбонат анионов, которые в свою очередь транспортируются Na^+/H^+ обменником (NHE) и анионным обменником (АЕ). Нетто-потоки ионов, генерируемые NKCC, КСС и NHE, находятся под контролем трансмембранных градиентов Na^+ и K^+ , создаваемых за счет работы Na^+ , K^+ -АТФ-азы (NKA). В ГМК работа этих транспортеров приводит, как правило, к увеличению $[Cl^-]_i$ до значений, превышающих E_{Cl^-} . По этой причине открытие хлорных каналов (1) сопровождается утечкой хлора и деполяризацией сарколеммы.

ВЛИЯНИЕ ПЕТЛЕВЫХ ДИУРЕТИКОВ НА СОКРАЩЕНИЕ ИЗОЛИРОВАННЫХ СОСУДОВ

Источник сосуда, концентрация вазоконстриктора, μM	Концентрация диуретика, μM / время инкубации, мин.	Буфер	Зарегистрированные изменения	Ссылка
<i>Большой круг кровообращения</i>				
Аорта крысы ФЭ — 0,01	Б — 10/20	Бик	2–3-кратное ингибирование сокращения	[37, 59]
Аорта крысы ФЭ — 1	Б — 10/20	Бик	НЭ	[37, 59]
Аорта крысы КСI — 3×10^4	Б — 10/20	Бик	НЭ	[37]
Аорта мыши ФЭ — 0,01–1	Б — 10/0	Бик	НЭ	[83]
Воротная вена мыши	Б — 10/10	Бик	2-кратное уменьшение амплитуды фазовых сокращений	[83]
Аорта крысы ФЭ — 1	Б — 100/30	Трис	10-кратное ингибирование сокращения	[25]
Аорта крысы КСI — 3×10^4	Б — 100/30	Трис	2-кратное ингибирование сокращения	[25]
Аорта крысы КСI — 6×10^4	Б — 100/30	Трис	НЭ	[25]
Аорта крысы ФЭ — 1	Б — 10/30	Бик	Уменьшение сокращения на 20–30 % у самцов, но не у самок	[39]
Аорта крысы БЭ АП — 0,1	Ф — 1/30	Бик	2-кратное ингибирование сокращения	[84]
Аорта мыши ФЭ — 10	Б — 10/30	Бик	Уменьшение сокращения на 35 %	[85]
Брыжеечные артерии крысы ФЭ — 1	Б — 30/30	Хеп	2-кратное ингибирование сокращения в присутствии L-NAME	[62]
Брыжеечные артерии крысы ФЭ — 1	Б — 30/30	Хеп	Полное ингибирование сокращения	[57]
Брыжеечные артерии крысы ФЭ — 100	Б — 30/30	Хеп	2–3-кратное ингибирование сокращения	[57]
Брыжеечные артерии крысы БЭ ФЭ — 1	Б — 10/30	Бик	2-кратное ингибирование сокращения	[38]
Брыжеечные артерии крысы ФЭ — 10	Б — 100/30	Хеп	8- и 2-кратное ингибирование сокращения при отсутствии и в присутствии L-NAME	[42]
Брыжеечные артерии мыши УТФ — 100	Б — 100/30	Хеп	3-кратное ингибирование сокращения при отсутствии и в присутствии L-NAME	[42]
Брыжеечные артерии мыши КСI — 3×10^4	Б — 100/30	Хеп	1,5-кратное ингибирование сокращения при отсутствии и в присутствии L-NAME	[42]
Брыжеечные артерии мыши МО	Б — 100/30	Хеп	3- и 2-кратное ингибирование сокращения при отсутствии и в присутствии L-NAME	[42]
ААП крысы АП — 0,1	Б — 10/0	Бик	10-кратное ингибирование сокращения	[34]
ААП крысы МО	Б — 10/0	Бик	3-кратное ингибирование сокращения при отсутствии и в присутствии L-NAME	[34]

Источник сосуда, концентрация вазоконстриктора μM	Концентрация диуретика, μM / время инкубации, мин.	Буфер	Зарегистрированные изменения	Ссылка
ААП крысы МО	Φ — 100/0	Бик	4-кратное ингибирование сокращения	[34]
ВАМЖ человек АП — 0,1	Φ — 100	Бик	2-кратное ингибирование сокращения	[32]
ПВ человек АП — 0,1	Φ — 100	Бик	3-кратное ингибирование сокращения	[32]
ПА человек С — 100; Г — 100	Б — 1000	Бик	2–3-кратное ингибирование сокращения	[43]
Малый круг кровообращения				
ЛА собаки НА — 1; U46619–0,01	Φ — 300	Бик	НЭ	[49]
ЛВ собаки НА — 1; U46619–0,01	Φ — 300	Бик	Уменьшение сокращения на 60 %	[49]
ЛА крысы НА — 0,1	Б — 100	Бик	Уменьшение сокращения на 10–15 %	[48]

Примечание: АП — ангиотензин II; ААП — афферентная артериола почки; Б — буметанид; Бик — бикарбонатный буфер (25 мМ NaHCO_3 с продувкой 5 % CO_2); БЭ — эндотелий был механически удален; ВАМЖ — внутренняя артерия молочной железы; Г — гистамин; ЛА — легочная артерия; ЛВ — легочная вена; МО — миогенный ответ, вызванный увеличением внутрисосудистого давления; НА — норадреналин; НЭ — отсутствие эффекта; ПА — пуповинная артерия; ПВ — подкожная вена; С — серотонин; Трис — tris-HCl буфер, не содержащий NaHCO_3 ; Ф — фуросемид; ФЭ — фенилэфрин; Хеп — HEPES буфер, не содержащий H_2CO_3 ; L-NAME — N^G -nitro-L-arginine methyl ester.

В соответствии с рассмотренной нами моделью было обнаружено, что ингибирование НКСС фуросемидом и буметанидом сопровождается снижением $[\text{Cl}^-]_i$ [24, 25] и гиперполяризацией ГМК аорты крысы [24]. Сведения об относительной роли других переносчиков в регуляции этих параметров в ГМК носят противоречивый характер, что во многом обусловлено отсутствием их специфических ингибиторов [22, 26].

Влияние петлевых диуретиков на сокращение и миогенный тонус сосудов

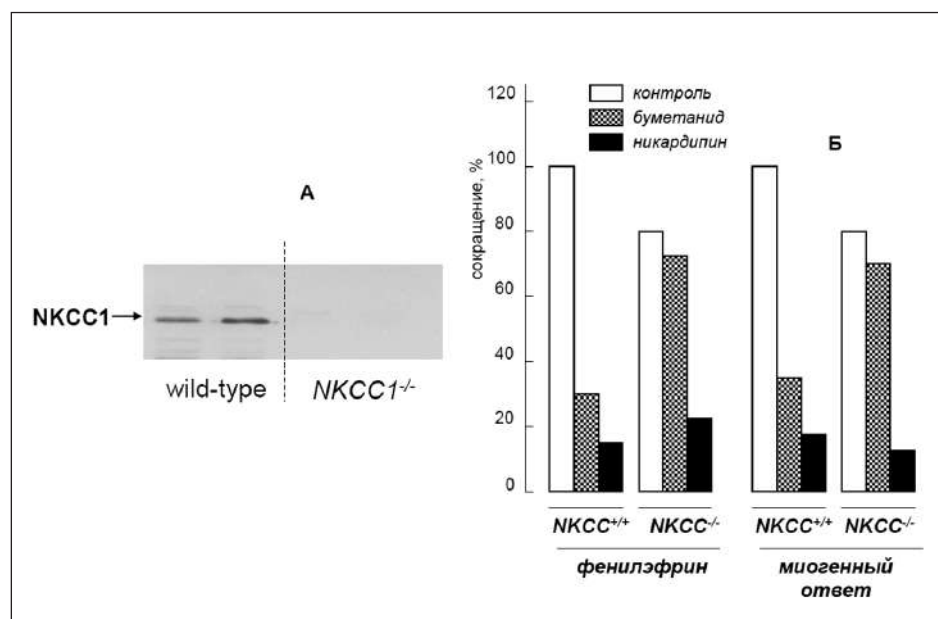
Данные о решающей роли Na^+ , K^+ , 2Cl^- -котранспорта в регуляции $[\text{Cl}^-]_i$ и E_m сарколеммы находятся в соответствии с ингибирующим действием петлевых диуретиков на сокращение большинства исследовавшихся на этот предмет констрикторов. Так, было установлено, что как фуросемид, так и буметанид вызывают снижение базального тонуса [27–29] и сокращения полосок гладкой мускулатуры в ответ на электрическую стимуляцию [30], добавление гистамина [31], ангиотензина II [32], тромбосана A_2 [33, 34], окситоцина [35, 36], агонистов α -адренэргических [25, 37–39] и пуринаэргических рецепторов [40]. Наряду с подавлением сокращений ГМК, вызванных указанными выше вазоконстрикторами, буметанид увеличивал расслабление аорты крысы в ответ на активацию гуанилатциклазы

нитропруссидом [41]. Результаты этих исследований суммированы в таблице. В нашей лаборатории было обнаружено, что ингибирующее действие буметанида (но не ингибитора потенциал-зависимых Ca^{2+} каналов L-типа никардипина) на сокращение изолированных брыжеечных сосудов в ответ на активацию α -адренэргических рецепторов фенилэфрином отсутствует у мышей, лишенных гена, кодирующего НКСС1 (мыши $\text{NKCC1}^{-/-}$) [42] (рис. 3). Эти данные свидетельствовали о том, что действие петлевых диуретиков на сокращение ГМК опосредовано их взаимодействием с универсальной изоформой Na^+ , K^+ , 2Cl^- -котранспорта.

В ряде работ было установлено, что петлевые диуретики подавляют сокращение сосудов в ответ на умеренные, но не насыщающие концентрации вазоконстрикторов. Так, например, фуросемид снижал чувствительность артерии молочной железы и пуповинной вены человека к стабильному аналогу тромбосана A_2 соединению U46619, не оказывая значимого влияния на амплитуду максимального сокращения [33]. Снижение чувствительности к фенилэфрину, серотонину и гистамину в присутствии буметанида было отмечено при исследовании сокращения пуповинной артерии человека и брыжеечных артерий крысы [38, 43]. Это согласуется с данными о том, что петлевые диуретики вызывают уменьшение сокращения сосудов в ответ на умеренную

Рисунок 3. А. Содержание иммунореактивного белка NKCC1 в брыжеечных артериях контрольных мышей (NKCC1^{+/+}) и мышей, нокаутированных по гену NKCC1 (NKCC1^{-/-}).

Б. Влияние буметанида и никардипина на сокращение, вызванное α -адренэргическим агонистом фенилэфрином, и миогенный ответ брыжеечных артерий контрольных и NKCC1^{-/-} мышей.
Модифицировано из работы [42]



деполяризацию, вызванную добавкой 30 mM KCl, но не полномасштабную деполяризацию в присутствии 60 mM KCl [25].

При анализе имеющихся данных мы обратили внимание на то, что сосудорасслабляющее действие петлевых диуретиков увеличивается при замене бикарбонатного буфера на трис-буфер (табл.). Так, например, в отсутствие HCO₃⁻ буметанид вызывал 10-кратное уменьшение сокращения аорты крысы, вызванное фенилэфрином [25], в то время как при использовании бикарбонатного буфера буметанид уменьшал этот параметр на 5–10% [37]. В дополнительных экспериментах мы показали, что добавление к трис-буферу 25 mM NaHCO₃ снижает ингибирующее действие буметанида на сокращения брыжеечных артерий крысы, вызванные 30 mM KCl и фенилэфрина, в 5 и 3 раза соответственно [44]. Это явление можно объяснить тем, что присутствие HCO₃⁻ нивелирует вклад Na⁺, K⁺, 2Cl⁻-котранспорта в регуляцию [Cl⁻]_i за счет активации анионных обменников. Действительно, при наличии анионов бикарбоната следует ожидать активацию Na⁺_o, HCO₃⁻_o-котранспорта (рис. 2), увеличение [HCO₃⁻]_i и последующее увеличение [Cl⁻]_i за счет активации HCO₃⁻/Cl⁻_o обмена. Кроме того, нами обнаружено, что в культуре ГМК аорты крысы добавление 5 mM NaHCO₃ приводит к 2-кратному уменьшению активности Na⁺, K⁺, 2Cl⁻-котранспорта, регистрируемого по величине буметанид-чувствительной компоненты скоро-

сти входа радиоактивного аналога калия ⁸⁶Rb [44]. Возможно, что в основе ингибирования Na⁺, K⁺, 2Cl⁻-котранспорта лежит вытеснение анионами бикарбоната хлора из мест его связывания на молекуле NKCC1. Не исключено также, что расхождение экспериментальных данных обусловлено и другими факторами. Так, например, было показано, что буметанид ингибировал сокращение аорты, вызванное добавлением насыщающих концентраций фенилэфрина, у самок, но не самцов крыс, что связано, по-видимому, с половыми особенностями регуляции активности NKCC1 [39].

Под миогенным тонусом (ответом) понимается уникальное свойство сосудов с диаметром < 100–200 мкм: вслед за незначительным увеличением диаметра в ответ на прирост давления заполняющей их жидкости радиус таких сосудов существенно уменьшается. Как кинетика, так и абсолютная величина миогенного ответа сосудов различных отделов кровяного русла существенно различаются. Миогенный ответ, выявленный в сосудистом русле скелетных мышц, а также в брыжеечных, мозговых, почечных и коронарных сосудах, играет центральную роль в поддержании постоянства движения крови в пределах микроциркуляторного русла независимо от колебаний системного АД [45–47]. Было установлено, что буметанид уменьшает миогенный тонус брыжеечных артерий [42] и полностью устраняет миогенный ответ афферентных артериол почек [34]. Как и в случае активации α -адренэргических

Сравнительно недавно получены данные о том, что наряду с ГМК сосудов активация NKCC1 участвует в патогенезе системной гипертензии через повышение $[Cl^-]$ в нейронах головного мозга, приводящего к активации симпатической нервной системы [5]. Следует, однако, отметить, что фуросемид (но не буметанид) напрямую ингибирует активность рецепторов гамма-аминомасляной кислоты (GABA-A) [54], то есть при условии его проникновения через гематоэнцефалический барьер он способен модулировать нейрональную активность независимо от ингибирования NKCC1.

Механизмы, приводящие к активации NKCC1 при первичной гипертензии, остаются малоизученными, что, по-видимому, отражает как полигенную природу этой болезни, так и множественные механизмы регуляции активности и экспрессии этого переносчика. Недавно проведенные исследования показали, что содержание как мРНК, так и белка NKCC1 увеличено в аорте, сердце и нейронах головного мозга крыс SHR [55, 56]. В случае аорты и сердца SHR повышенная экспрессия этого переносчика сопровождается снижением метилирования промотора *NKCC1* гена [55]. Следует отметить, что метилирование *NKCC1* промотора увеличивалось с возрастом у нормотензивных крыс и не изменялось у гипертензивных животных [57]. Было также установлено, что активность ДНК метилтрансферазы 3 В (DNMT3B) в 3 раза выше у 18-недельных нормотензивных крыс по сравнению с SHR того же возраста. Эти исследования предполагают, что при экспериментальной модели первичной гипертензии гипометилирование *NKCC1* промотора является следствием снижения активности DNMT3B, что в свою очередь приводит к повышению экспрессии NKCC1, увеличению $[Cl^-]$, деполяризации ГМК, увеличению сосудистого тонуса и системного АД. Наряду с рассмотренным выше механизмом, активация NKCC1 в ГМК сосудов может быть следствием долгосрочного поддержания повышенного АД, как это выявлено у животных с ДОКА-солевой гипертензией [24, 58] или стенозом абдоминальной аорты [59]. В первом случае увеличение содержания NKCC1 в ГМК обусловлено, по-видимому, активацией минералокортикоидных рецепторов альдостероном [60, 61]. Недавно было также обнаружено, что как эпигенетическая модификация активности промотора NKCC1, так и увеличение содержания мРНК в ГМК аорты наблюдается при гипертензии, вызванной длительной инъекцией крысам ангиотензина II [62].

Роль в патогенезе легочной гипертензии

Сведения о вовлечении Na^+ , K^+ , $2Cl^-$ -котранспорта в патогенез легочной гипертензии ограничиваются

единичным исследованием, в котором крысы, обработанные монокроталином, использовались в качестве экспериментальной модели легочной гипертензии человека. Было обнаружено, что $100 \mu M$ буметанида вызывает 30-процентное снижение базального тонуса и двукратное уменьшение максимального сокращения в ответ на активацию адренорецепторов норадреналином легочной артерии, изолированной из крыс с легочной гипертензией, не оказывая существенного влияния на сокращение легочной артерии контрольных животных [48].

Может ли NKCC1 рассматриваться в качестве мишени лечения системной и легочной гипертензии?

Петлевые диуретики широко используются для коррекции нарушений водно-солевого гомеостаза при ряде патологических состояний, включая долгосрочное повышение АД. До последнего времени считалось, что их мишенью является NKCC2 — изоформа Na^+ , K^+ , $2Cl^-$ -котранспорта, экспрессия которой ограничена апикальной мембраной клеток эпителия восходящего отдела петли Генле и юкстагломерулярного аппарата почки, в результате чего уменьшается реабсорбция соли и происходит уменьшение объема внеклеточной жидкости [5]. Данные, рассмотренные выше, свидетельствуют об активации у крыс со спонтанной гипертензией универсальной изоформы этого переносчика NKCC1 и его вкладе в формирование повышенной чувствительности ГМК к действию вазоконстрикторов. В этой связи можно рассматривать NKCC1 в качестве потенциальной мишени петлевых диуретиков с целью уменьшения периферического сопротивления большого круга кровообращения и нормализации системного АД.

Как отмечалось выше, наряду с подавлением действия вазоконстрикторов на ГМК петлевые диуретики ингибируют миогенный тонус сосудов — эффективный механизм защиты почек и других органов-мишеней от повышения системного АД. Для изучения роли миогенного ответа в функционировании почек Лотзенхизер с соавторами разработали модель изолированной перфузируемой почки, которая позволяет исследовать особенности микроциркуляторной системы этого органа в отсутствие воздействия на нее юкстагломерулярного аппарата, обогащенного другой мишенью петлевых диуретиков NKCC2. С помощью этой модели было установлено, что буметанид полностью подавляет миогенный ответ афферентной артериолы почек крысы [34]. Результаты этих исследований, рассмотренные в совокупности с данными об отсутствии влияния буметанида на миогенный ответ

брыжеечных артерий *NKCC1*^{-/-} мышей [42], позволили нам предположить, что увеличенная активность *NKCC1*, зарегистрированная у SHR, MHS и больных эссенциальной гипертонией, защищает почки от разрушающего воздействия повышения АД, в то время как хроническое использование петлевых диуретиков ускоряет развитие почечной недостаточности, в том числе протеинурии [7, 8, 63]. Эта гипотеза согласуется с 4-кратным увеличением частоты почечных осложнений у больных гипертонией негроидной расы [64], в эритроцитах которых активность *NKCC1* в 2–3 раза ниже по сравнению с больными кавказской расы [63, 65]. Роль *NKCC1* в защите от инсульта через формирование миогенного ответа сосудов головного мозга остается неизученной.

В нормальных условиях легочная циркуляция обладает малым периферическим сопротивлением и функционирует при низком давлении. Увеличение периферического сопротивления — одна из основных причин легочной гипертонии, сопровождающейся повышением давления выше 25 мм рт. ст. В большинстве случаев эта болезнь протекает на фоне нарушенной функции воздухопроводящих путей легких в связи с хронической обструкцией бронхов и/или идиопатическим фиброзом легких, вызывающих гипоксию и, как следствие этого, сокращения ГМК сосудов малого круга кровообращения. К настоящему времени не удалось продемонстрировать какого-либо существенного улучшения гемодинамики малого круга кровообращения и развития сердечной недостаточности на фоне лекарств, традиционно используемых при системной АГ, и совместная пересадка сердца и легких остается единственным эффективным подходом к лечению этой болезни. Более детально аспекты патогенеза легочной гипертонии рассмотрены в обзорах [66–73].

В связи с отсутствием существенного миогенного ответа ГМК сосудов малого круга кровообращения *NKCC1* можно рассматривать как возможную мишень лечения легочной гипертонии ингаляционными формами петлевых диуретиков, обеспечивающими их локальную доставку в легкие. Этот подход представляется особенно актуальным в связи с тем, что ингаляция фуросемида и других петлевых диуретиков оказывает расслабляющее действие на ГМК воздухопроводящих путей легких человека [50, 74–78]. Было также установлено, что фуросемид вызывает 4-кратное уменьшение интенсивности кислородного взрыва нейтрофилов в ответ на добавление формилового пептида [79], что указывает на возможность использования петлевых диуретиков для ингибирования воспалительного процесса, сопровождающего развитие хронических

болезней легких. Кроме того петлевые диуретики подавляют пролиферацию ГМК воздухопроводящих путей, способствуя тем самым нормализации геометрии бронхов [80], гипертрофия которых отмечена у больных астмой. Эти работы указывают на то, что петлевые диуретики могут быть успешно использованы для лечения больных, у которых легочная гипертония сочетается с астмой и хронической обструкцией бронхов.

Заключение

Данные, рассмотренные в обзоре, указывают на вовлечение универсальной изоформы *NKCC1* в регуляцию концентрации внутриклеточного хлора и сокращения ГМК сосудов большого круга кровообращения. Ингибирующее действие фуросемида, буметанида и других блокаторов этого переносчика на сокращение изолированных резистентных сосудов в ответ на умеренную деполяризацию и ряд вазоконстрикторов, продемонстрированное в целом ряде лабораторий, указывает на *NKCC1* как возможную мишень для лечения системной АГ. Однако данные об ингибировании петлевыми диуретиками миогенного ответа афферентной артериолы почки и резистентных сосудов, полученные *in vitro*, указывают на возможные побочные действия этих лекарств. Миогенный тонус не играет существенной роли в регуляции кровоснабжения легких. В этой связи ингаляция петлевых диуретиков может рассматриваться как перспективный подход для лечения легочной гипертонии. Возможность такого использования петлевых диуретиков усиливается данными о расслабляющем действии этих соединений на ГМК бронхов. К настоящему времени данные о вовлечении *NKCC1* в регуляцию сокращения ГМК малого круга кровообращения ограничены единичной публикацией, свидетельствующей об уменьшении сокращения в ответ на норадреналин легочной артерии, изолированной из крыс с экспериментальной моделью легочной гипертонии [48]. Известно, однако, что в отсутствие патологических изменений эффективность α -адренэргических рецепторов в регуляции сокращения ГМК малого круга кровообращения существенно ниже по сравнению с β -рецепторами [81]. В предварительных экспериментах нам не удалось обнаружить значимого влияния буметанида на сокращение легочной артерии нормотензивных крыс в ответ на U46619 (данные подготавливаются к публикации). Следует обратить внимание на то, что в отличие от буметанида фуросемид не может быть использован в подобного рода экспериментах ввиду *NKCC1*-независимого механизма ингибирования этим соединением рецепторов тромбосана [82].

Таким образом, для ответа на вопрос о возможности применения петлевых диуретиков или других, более селективных ингибиторов NKCC1 для лечения легочной гипертензии необходимо проведение дополнительных экспериментов.

Конфликт интересов / Conflict of interest

Эта работа была поддержана грантами Канадского института исследований в области здравоохранения (MOP-81392), Федеральной целевой программой 2009–2013 годов «Научно-исследовательские кадры инновационной России», Российским фондом фундаментальных исследований (№ 15–04–00101) и Российским научным фондом (№ 14–15–00006 и № 16–15–10026). / The study was supported by the grants of the Canadian Institute of Health Care System (MOP-81392), Federal goal-oriented program 2009–2013 “Scientists of Innovative Russia”, Russian Foundation of Fundamental Studies (№ 15–04–00101), and Russian Scientific Foundation (№ 14–15–00006 and № 16–15–10026).

Список литературы / References

- Adragna N, Di Fulvio M, Lauf PK. Regulation of K-Cl cotransport: from function to genes. *J Membr Biol.* 2004;201(3): 109–137. doi:10.1007/s00232-004-0695-6
- Gamba G. Molecular physiology and pathophysiology of electroneutral cation-chloride cotransporters. *Physiol.* 2005;85(2): 423–493. doi:10.1152/physrev.00011.2004
- Orlov SN, Mongin AA. Salt sensing mechanisms in blood pressure regulation and hypertension. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 2007;293: H2039–H2053. doi:10.1152/ajpheart.00325.2007
- Markadieu N, Delpire E. Physiology and pathophysiology of SLC12A1/2 transporters. *Pflugers Arch Eur J Physiol.* 2014;466(1): 91–105. doi:10.1007/s00424-013-1370-5
- Орлов С. Н., Кольцова С. В., Каплевич Л. В., Дулин Н. О., Гусакова С. В. Котранспортеры катионов и хлора: регуляция, физиологическое значение и роль в патогенезе артериальной гипертензии. *Успехи биологической химии.* 2014;54:267–298. [Orlov SN, Koltsova SV, Kapilevich LV, Dulin NO, Gusakova SV. Cation and chloride cotransporters: regulation, physiological significance and role in pathogenesis of arterial hypertension. *Uspehi Biologicheskoy Khimii = Biological Chemistry Reviews.* 2014;54:267–298. In Russian].
- Pearson G, Robinson F, Beers GT, Xu BE, Karandikar M, Berman K et al. Mitogen-activated protein (MAP) kinase pathways: regulation and physiological functions. *Endocrinology.* 2001;22:153–183. doi:10.1210/edrv.22.2.0428
- Orlov SN, 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;19:163–168. doi:10.1097/MNH.0b013e3283360a46
- Orlov SN, Koltsova SV, Tremblay J, Baskakov MB, Hamet P. NKCC1 and hypertension: role in the regulation of vascular smooth muscle contractions and myogenic tone. *Ann Med.* 2012;44: S111–S118. doi:10.3109/07853890.2011.653395
- Orlov SN. NKCC1 as an epigenetically regulated transporter involved in blood pressure elevation with age. *Am J Hypertens.* 2011;24:1264. doi:10.1038/ajh.2011.150
- Orlov SN, Koltsova SV, Kapilevich LV, Gusakova SV, Dulin NO. NKCC1 and NKCC2: The pathogenetic role of cation-chloride cotransporters in hypertension. *Gens Dis.* 2015;2:186–196. doi:10.1016/j.gendis.2015.02.007
- Reho JJ, Zheng X, Fisher SA. Smooth muscle contractile diversity in the control of regional circulations. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 2014;306(2): H163–H172. doi:10.1152/ajpheart.00493.2013
- Chipperfield AR, Harper AA. Chloride in smooth muscle. *Prog Biophys Mol Biol.* 2001;74(3–5):175–221.
- Bulley S, Jaggar JH. Cl⁻ channels in smooth muscle cells. *Pflugers Arch Eur J Physiol.* 2014;466(5):861–872.
- Matchkov VV, Boedtker DM, Aalkjaer C. The role of Ca²⁺ activated Cl⁻ channels in blood pressure control. *Curr Opin Pharmacol.* 2015;21:127–137. doi:10.1016/j.coph.2015.02.003
- Leblanc N, Forrest AS, Ayon RJ, Wiwchar M, Angermann JE, Pritchard HAT et al. Molecular and functional significance of Ca²⁺-activated Cl⁻ channels in pulmonary arterial hypertension. *Pulm Circ.* 2015;5(2):244–268. doi:10.1086/680189
- Forrest AS, Joyce TC, Huebner ML, Ayon RJ, Wiwchar M, Joyce C et al. Increased TMEM16A-encoded calcium-activated chloride channel activity is associated with pulmonary hypertension. *Am J Physiol Cell Physiol.* 2012;303(12): C1229–C1243. doi:10.1152/ajpcell.00044.2012
- Sun H, Xia Y, Paudel O, Yang XR, Sham JS. Chronic hypoxia-induced upregulation of Ca²⁺-activated Cl⁻ channels in pulmonary artery myocytes: a mechanism contributing to enhanced vasoreactivity. *J Physiol.* 2012;590(15):3507–3521. doi:10.1113/jphysiol.2012.232520
- Heinze C, Seniuk A, Sokolov MV, Huebner AK, Klementowicz AE, Szijarto IA et al. Disruption of vascular Ca²⁺-activated chloride currents lowers blood pressure. *J Clin Invest.* 2014;124(2):675–686. doi:10.1172/JCI70025
- Kaplan MR, Plotkin MD, Brown D, Hebert SC, Delpire E. Expression of the mouse Na-K-2Cl cotransporter, mBSC2, in the terminal inner medullary collecting duct, the glomerular and extraglomerular mesangium, and glomerular afferent arteriole. *J Clin Invest.* 1996;98(3):723–730. doi:10.1172/JCI118844
- Hubner CA, Lorke DE, Hermans-Borgmeyer I. Expression of the Na-K-2Cl-cotransporter NKCC1 during mouse development. *Mech Dev.* 2001;102(1–2):267–269.
- Rust MB, Faulhaber J, Budack M, Pfeffer C, Maritzen T, Didie M et al. Neurogenic mechanisms contribute to hypertension in mice with disruption of the C-VI-cotransporter KCC3. *Circ Res.* 2006;98(4):549–556. doi:10.1161/01.RES.0000204449.83861.22
- Boedtker E, Aalkjaer C. Intracellular pH in the resistance vasculature: regulation and functional implications. *J Vasc Res.* 2012;49(6):479–496. doi:10.1159/000341235
- Brosius FC, Pisoni RL, Cao X, Deshmukh G, Yannoukakos D, Stuart-Tilley AK et al. AE anion exchanger mRNA and protein expression in vascular smooth muscle cells, aorta and renal microvessels. *Am J Physiol.* 1997;273(6 Pt 2): F1039–F1047.
- Davis JPL, Chipperfield AR, Harper AA. Accumulation of intracellular chloride by (Na-K-Cl) cotransport in rat arterial smooth muscle is enhanced in deoxycorticosterone acetate (DOCA)/salt hypertension. *J Mol Cell Cardiol.* 1993;25(3): 233–237.
- Anfinogenova YJ, Baskakov MB, Kovalev IV, Kilin AA, Dulin NO, Orlov SN. Cell-volume-dependent vascular smooth muscle contraction: role of Na⁺, K⁺, 2Cl⁻ cotransport, intracellular Cl⁻ and L-type Ca²⁺ channels. *Pflugers Arch. Eur J Physiol.* 2004;449:42–55. doi:10.1007/s00424-004-1316-z
- Hubner CA, Schroeder BC, Ehmke H. Regulation of vascular tone and arterial blood pressure: role of chloride transport in vascular smooth muscle. *Pflugers Arch. Eur J Physiol.* 2015;467(3):605–614. doi:10.1007/s00424-014-1684-y

27. Barthelmebs M, Stephan D, Fontaine C, Grima M, Imbs JL. Vascular effects of loop diuretics: an in vivo and in vitro study in the rat. *Naunyn-Schmiedeberg Arch Pharmacol.* 1994;349(2):209–216.
28. Lavallee SL, Iwamoto LM, Claybaugh JR, Dressel MV, Sato AK, Nakamura KT. Furosemide-induced airway relaxation in guinea pigs: relation to Na-K-2Cl cotransporter function. *Am J Physiol.* 1997;273 (1 Pt 1): L211-L216.
29. Tian R, Aalkjaer C, Andreassen F. Mechanisms behind the relaxing effect of furosemide on the isolated rabbit ear artery. *Pharmacol Toxicol.* 1990;67(5):406–410.
30. Kovalev IV, Baskakov MB, Anfinogenova YJ, Borodin YL, Kilin AA, Minochenko IL et al. Effect of Na⁺, K⁺, 2Cl-cotransport inhibitor bumetanide on electrical and contractile activity of smooth muscle cells in guinea pig ureter. *Bull Exp Biol Med.* 2003;136(8):145–149.
31. Ковалев И. В., Баскаков М. Б., Медведев М. А., Миноченко И. Л., Килин А. А., Анфиногенова Я. Д. и др. Изучение роли Na⁺, K⁺, 2Cl-котранспорта и хлорной проводимости мембраны в регуляции электрической и сократительной активности гладкомышечных клеток мочеточника морской свинки мезатонимигистином. *Российский физиологический журнал им. И. М. Сеченова.* 2007;93:306–317. [Kovalev IV, Baskakov MB, Medvedev MA, Minochenko IL, Kilin AA, Anfinogenova YJ, Borodin IV, Gusakova SV, Popov AG, Kapilevich LV, Orlov SN. Na⁺, K⁺, 2Cl-cotransport and chloride permeability of the cell membrane in mezaton and histamine regulation of electrical and contractile activity in smooth muscle cells from the guinea pig ureter. *Rossiyskiy fiziologicheskii zhurnal im. IM Sechenova = Ross Fiziol Zh Im I M Sechenova.* 2007;93:306–317. In Russian]
32. Stanke F, Devillier P, Breant D, Chavanon O, Sessa C, Bricca G et al. Furosemide inhibits angiotensin II-induced contraction on human vascular smooth muscle. *Br J Clin Pharmacol.* 1998;46(6):571–575.
33. Stanke-Labesque F, Craciowski JL, Bedouch P, Chavanon O, Magne JL, Bessard G et al. Furosemide inhibits thromboxane A₂-induced contraction in isolated human internal artery and saphenous vein. *J Cardiovasc Pharmacol.* 2000;35(4):531–537.
34. Wang X, Breaks J, Loutzenhiser K, Loutzenhiser R. Effects of inhibition of the Na⁺/K⁺/2Cl⁻ cotransporter on myogenic and angiotensin II responses of the rat afferent arteriole. *Am J Physiol Renal Physiol.* 2007;292(3): F999-F1006. doi:10.1152/ajprenal.00343.2006
35. Mozhayeva MG, Bagrov YY. The inhibitory effects of furosemide on Ca²⁺ influx pathways associated with oxytocin-induced contractions of rat myometrium. *Gen Physiol Biophys.* 1995;14(5):427–436.
36. Mozhayeva MG, Bagrov YY, Ostretsova IB, Gillespie JI. The effect of furosemide on oxytocin-induced contractions of the rat myometrium. *Exp Physiol.* 1994;79(5):661–667.
37. Akar F, Skinner E, Klein JD, Jena M, Paul RJ, O'Neill WC. Vasoconstrictors and nitrovasodilators reciprocally regulate the Na⁺-K⁺-2Cl⁻ cotransporter in rat aorta. *Am J Physiol.* 1999;276(6 Pt 1): C1383-C1390.
38. Garg P, Martin C, Elms SC, Gordon FJ, Wall SM, Garland CJ et al. Effect of the Na-K-2Cl cotransporter NKCC1 on systematic blood pressure and smooth muscle tone. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 2007;29(5): H2100-H2105. doi:10.1152/ajpheart.01402.2006
39. Palacios J, Espinoza F, Munita C, Cifuentes F, Michea L. Na⁺-K⁺-2Cl⁻ cotransporter is implicated in gender differences in the response of the rat aorta to phenylephrine. *Br J Pharmacol.* 2006;148(7):964–972. doi:10.1038/sj.bjp.0706818
40. Koltsova SV, Maximov GV, Kotelevtsev SV, Lavoie JL, Tremblay J, Grygorczyk R, Hamet P, Orlov SN. Myogenic tone in mouse mesenteric arteries: evidence for P2Y receptor-mediated, Na⁺, K⁺, 2Cl⁻-cotransport-dependent signaling. *Purinergic Signaling.* 2009;5:343–349.
41. Valero M, Pereboom D, Garay RP, Alda JO. Role of chloride transport proteins in the vasorelaxant action of nitroprusside in isolated rat aorta. *Eur J Pharmacol.* 2006;553(1–3):205–208. doi:10.1016/j.ejphar.2006.09.015
42. Koltsova SV, Kotelevtsev SV, Tremblay J, Hamet P, Orlov SN. Excitation-contraction coupling in resistant mesenteric arteries: evidence for NKCC1-mediated pathway. *Biochem Biophys Res Commun.* 2009;379:1080–1083.
43. Dayioglu E, Buharalioglu K, Saracoglu F, Akar F. The effects of bumetanide on human umbilical artery contractions. *Reproductive Sci.* 2007;14(3):246–252. doi:10.1177/1933719107300871
44. Koltsova SV, Luneva OG, Lavoie JL, Tremblay J, Maksimov GV, Hamet P, Orlov SN. HCO₃⁻-dependent impact of Na⁺, K⁺, 2Cl⁻ cotransport in vascular smooth muscle excitation-contraction coupling. *Cell Physiol Biochem.* 2009;23:407–414. doi:10.1159/000218187
45. Davis MJ, Hill MA. Signaling mechanisms underlying the vascular myogenic response. *Physiol Rev.* 1999;79(2):387–423.
46. Hill MA, Davis MJ, Meininger GA, Potocnik SJ, Murphy TV. Arteriolar myogenic signaling mechanisms: implications for local vascular functions. *Clin Hemorheol Microcirc.* 2006;34(1–2):67–79.
47. Schubert R, Mulvany MJ. The myogenic response: established facts and attractive hypothesis. *Clin Sci.* 1999;96(4):313–326.
48. Oriowo MA. Chloride channels and α₁-adrenoceptor-mediated pulmonary artery smooth muscle contraction: effect of pulmonary hypertension. *Eur J Pharmacol.* 2004;506(2):157–163.
49. Greenberg S, McGowan C, Xie J, Summer WR. Selective pulmonary and venous smooth muscle relaxation by furosemide: a comparison with morphine. *J Pharmacol Exp Ther.* 1994;270(3): 1077–1085.
50. Cotton R, Suarez S, Reese J. Unexpected extra-renal effects of loop diuretics in the preterm neonate. *Acta Paediatrica.* 2012;101(8): 835–845. doi:10.1111/j.1651-2227.2012.02699.x
51. Postnov Yu V, Orlov SN. Ion transport across plasma membrane in primary hypertension. *Physiol Rev.* 1985;65:904–945
52. Orlov SN, Adragna N, Adarichev VA, Hamet P. Genetic and biochemical determinants of abnormal monovalent ion transport in primary hypertension. *Am J Physiol.* 1999;276: C511-C536
53. Garay RP, Alda O. What can we learn from erythrocyte Na-K-Cl cotransporter NKCC1 in human hypertension? *Pathophysiology.* 2007;14(3–4):167–170. doi:10.1016/j.pathophys.2007.09.006
54. Korpi ER, Luddens H. Furosemide interactions with brain GABA_A receptors. *Br J Pharmacol.* 1997;120(5):741–748.
55. Lee HA, Baek I, Seok YM, Yang E, Cho HM, Lee DY et al. Promoter hypomethylation upregulates Na⁺-K⁺-2Cl⁻ cotransporter 1 in spontaneously hypertensive rats. *Biochem Biophys Res Commun.* 2010;396(2):252–257. doi:10.1016/j.bbrc.2010.04.074
56. Ye ZY, Li DP, Byun HS, Li L, Pan HL. NKCC1 upregulation disrupts chloride homeostasis in the hypothalamus and increases neuronal-sympathetic drive in hypertension. *J Neurosci.* 2012;32(25): 8560–8568. doi:10.1523/JNEUROSCI.1346-12.2012
57. Cho HM, Lee HA, Kim HY, Han HS, Kim IK. Expression of Na⁺, K⁺-2Cl⁻ cotransporter is epigenetically regulated during postnatal development of hypertension. *Am J Hypertens.* 2011;24(12): 1286–1293. doi:10.1038/ajh.2011.136
58. Brown RA, Chipperfield AR, Davis JPL, Harper AA. Increased (Na⁺+K⁺+Cl⁻) cotransport in rat arterial smooth muscle in deoxycorticosterone (DOCA)/salt-induced hypertension. *J Vasc Res.* 1999;36(6):492–501.
59. Jiang G, Akar F, Cobbs SL, Lomashvilli K, Lakkis R, Gordon FJ et al. Blood pressure regulates the activity and function of Na-K-2Cl cotransporter in vascular smooth muscle.

Am J Physiol Heart Circ Physiol. 2004;286(4): H1552-H1557. doi:10.1152/ajpheart.00695.2003

60. Jiang G, Cobbs S, Klein JD, O'Neill WC. Aldosterone regulates the Na-K-2Cl cotransporter in vascular smooth muscle. *Hypertension*. 2003;41(5):1131–1135. doi:10.1161/01.HYP.0000066128.04083.CA

61. Ding B, Frisina RD, Zhu X, Sakai Y, Sokolowski B, Walton JP. Direct control of Na⁺-K⁺-2Cl⁻ cotransport protein (NKCC1) expression with aldosterone. *Am J Physiol Cell Physiol*. 2014;306(1): C66-C75. doi:10.1152/ajpcell.00096.2013

62. Cho HM, Lee DY, Kim HY, Lee HA, Seok YM, Kim IK. Upregulation of the Na⁺-K⁺-2Cl⁻ cotransporter 1 via histone modification in the aortas of angiotensin II-induced hypertensive rats. *Hypertens. Res.* 2012;35(8):819–824. doi:10.1038/hr.2012.37

63. Orlov SN. Decreased Na⁺, K⁺, Cl⁻-cotransport and salt retention in Blacks: a provocative hypothesis. *J. Hypertens.* 2005;23:1929–1930.

64. Boone CA. End-stage renal disease in African-Americans. *Nephrol Nurs J.* 2000;27(6):597–600.

65. Orlov SN, Gossard F, Pausova Z, Akimova OA, Tremblay J, Grim CE et al. Decreased NKCC1 activity in erythrocytes from African-Americans with hypertension and dyslipidemia. *Am J Hypertens.* 2010;23:321–326. doi:10.1038/ajh.2009.249

66. Huber LC, Bye H, Brock M. The pathogenesis of pulmonary hypertension — an update. *Swiss Medical Weekly.* 2015;145: w14202. doi:10.4414/sm.w.2015.14202

67. Kanwar MK, Thenappan T, Vachieri JL. Update in treatment options in pulmonary hypertension. *J Heart Lung Transplant.* 2016;35(6):695–703. doi:10.1016/j.healun.2016.01.020

68. Noordegraaf AV, Groeneveldt JA, Bogaard HJ. Pulmonary hypertension. *Eur Respir Rev.* 2016;25(139):4–11. doi:10.1183/16000617.0096–2015

69. Cuttica MJ. Pulmonary hypertension associated with lung diseases and hypoxemia. *Heart Fail Rev.* 2016;21(3):299–308. doi:10.1007/s10741-016-9551-x

70. Hambly N, Alawfi F, Mehta S. Pulmonary hypertension: diagnostic approach and optimal management. *CMAJ.* 2016;188(11):804–12. doi:10.1503/cmaj.151075

71. Velayti A, Valerio MG, Shen D, Tariq S, Lanier GM, Aronow WS. Update on pulmonary arterial hypertension pharmacotherapy. *Postgraduate Medicine.* 2016;128(5):460–473. doi:10.1080/00325481.2016.1188664

72. Hu J, Xu Q, McTiernan C, Lai YC, Osei-Hwedie D, Gladwin M. Novel targets of drug treatment for pulmonary hypertension. *Am J Cardiovasc Drugs.* 2015;15(4):225–234. doi:10.1007/s40256-015-0125-4

73. Humbert M, Ghofrani HS. The molecular targets of approved treatments for pulmonary arterial hypertension. *Thorax.* 2016;71(1):73–83. doi:10.1136/thoraxjnl-2015-207170

74. Bianco S, Robuschi M, Vaghi A, Fumagalli A, Sestini P. Inhaled transmembrane ion transport modulators and non-steroidal anti-inflammatory drugs in asthma. *Thorax.* 2000;55(suppl 2): S48-S50.

75. Inokuchi R, Aoki A, Aoki Y, Yahagi N. Effectiveness of inhaled furosemide for acute asthma exacerbation: a meta-analysis. *Crit Care.* 2014;18(6):621. doi:10.1186/s13054-014-0621-y

76. Spicuzza L, Ciancio N, Pellegrino R, Bellofiore S, Polosa R, Ricciardolo FL et al. The effect of inhaled furosemide and acetazolamide on bronchoconstriction induced by deep inspiration in asthma. *Monaldi Arch Chest Dis.* 2003;59(2):150–154.

77. Cavaliere F, Masieri S. Furosemide protective effect against airway obstruction. *Curr Drug Targets.* 2002;3(3):197–201.

78. Masoumi K, Forouzan A, Shoushtari MH, Porozan S, Feli M, Sheidaee MFB et al. The efficacy of nebulized furosemide and salbutamol compared with salbutamol alone in reactive

airway: a double blind randomized, clinical trial. *Emerg Med Int.* 2014;2014:638102. doi:10.1155/2014/638102

79. Bialasiewicz P, Wlodarczyk A, Dudkiewicz B, Nowak D. Inhibitory effect of furosemide on activation of human peripheral blood polymorphonuclear leukocytes stimulated with n-gormyl-methionyl-leucyl-phenylalanine. *Int. Immunopharmacol.* 2004;4(6):819–831. doi:10.1016/j.intimp.2004.01.024

80. Iwamoto LM, Fujiwara N, Nakamura KT, Wada RK. Na-K-2Cl cotransporter inhibition impairs human lung cellular proliferation. *Am. J. Physiol. Lung Cell Mol Physiol.* 2004;287(3): L510-L514. doi:10.1152/ajplung.00021.2004

81. Salvi SS. al-Adrenergic hypothesis for pulmonary hypertension. *Chest.* 1999;115(6):1708–1719.

82. Molimard M, Naline E, Hirsch A, Advenier C. Furosemide inhibits bradykinin-induced contraction of human bronchi: role of thromboxane A2 receptor antagonism. *Eur J Pharmacol.* 1995;278(3):253–256.

83. Meyer JW, Flagella M, Sutcliffe RL, Lorenz JN, Nieman ML, Weber GS, et al. Decreased blood pressure and vascular smooth muscle tone in mice lacking basolateral Na⁺-K⁺-2Cl⁻ cotransporter. *Am J Physiol.* 2002;283(5): H1846-H1855. doi:10.1152/ajpheart.00083.2002

84. Fortuno A, Muniz P, Ravassa S, Rodriguez JA, Fortuno A, Zalba G et al. Torasemide inhibits angiotensin II-induced vasoconstriction and intracellular calcium increase in the aorta of spontaneously hypertensive rats. *Hypertension.* 1999;34(1): 138–143.

85. Shen B, Fu J, Guo J, Zhang J, Wang X, Pan X et al. Role of Na⁺-K⁺-2Cl⁻ cotransporter 1 in phenylephrine-induced rhythmic contraction in the mouse aorta: regulation of Na⁺-K⁺-2Cl⁻ cotransporter 1 by Ca²⁺ sparks and K_{Ca} channels. *Cell Physiol Biochem.* 2015;37(2):747–758. doi: 10.1159/000430392

Информация об авторах

Орлов Сергей Николаевич — доктор медицинских наук, профессор, заведующий лабораторией физико-химии биологических мембран ФГБОУ ВО МГУ им. М.В. Ломоносова, главный сотрудник ФГБОУ ВО Сибирский ГМУ Минздрава России;

Гусакова Светлана Валерьевна — заведующая кафедрой биофизики и функциональной диагностики ФГБОУ ВО Сибирский ГМУ Минздрава России.

Author information

Sergey N. Orlov, MD, PhD, DSc, Professor, Head, Laboratory of Physics and Chemistry of Biological Membranes, Faculty of Biology, MV Lomonosov Moscow State University, Siberian Medical State University;

Svetlana V. Gusakova, MD, Head, Department of Biophysics and Functional Diagnostics, Siberian Medical State University.