Обзоры

УДК [616.132.2–089.86–06–005.6]:575.17

ГРИГОРОВА Ю. Н.[1], БАГРОВ А. Я.[2,3], ФЕДОРОВА О. В.[2]

Кардиотонические стероиды: основные эффекты, терапевтические подходы

[1] Северо-Западный федеральный медицинский исследовательский центр
197341, Россия, Санкт-Петербург, ул. Аккуратова, 2
[2] National Institute on Aging, National Institutes of Health, Baltimore, MD
[3] Институт эволюционной физиологии и биохимии им. И. М. Сеченова
194223, Россия, Санкт-Петербург, пр. Тореза, 44
e-mail: bagrova@grc.nia.nih.gov

Реферат

На протяжении последних 50 лет многочисленные исследования были направлены на поиски предполагемого натрийуретического гормона, обладающего свойствами дигиталисподобных веществ. К сегодняшнему дню эндогенные кардиотонические стероиды идентифицированы в плазме человека, грызунов и амфибий, а несомненность роли в регуляуции водно-электролитного баланса доказана. Обнаружение повышенного уровня МБГ в плазме при различных патологических состояниях, таких как артериальная гипертензия, хроническая почечная недостаточность, преэклампсия и хроническая сердечная недостаточность, поспособствовало продвижению исследований в направлении изучения вовлечения МБГ в патогенез вышеперечисленных заболеваний, а также биосинтеза МБГ. Было продемонстрировано, что, помимо основного натрийуретического эффекта, МБГ обладает вазоконстрикторными и профибротическими свойствами.

Изучение патофизиологической роли МБГ в развитии сердечно-сосудистых заболеваний подтолкнуло исследователей к рассмотрению МБГ в качестве терапевтической мишени. В качестве основных подходов к терапии рассмотрены иммунонейтрализация МБГ моноклональными антителами, а также антагонистическое взаимодействие антагонистов альдостерона и МБГ. Дальнейшее изучение и идентификация механизмов действия и синтеза КТС позволяет расширить горизонты современной терапии.

Ключевые слова: *кардиотонические стероиды, маринобуфагенин, оуабаин.*

Эндогенные кардиотонические стероиды и концепция натриуретического гормона

Концепция натрийуретического гормона, выдвинутая de Wardener, заключается в существовании гуморального прогипертензивного фактора, являвшегося эндогенным ингибитором Na/K-АТФазы и участвующего в патогенезе соль-чувствительной гипертензии [15, 17, 48]. Эта концепция была сформулирована на основании результатов многочисленных экспериментов на животных с высоким потреблением соли, а также изучения солевой нагрузки и объемзависимых форм гипертензии у людей [17, 48]. Na/K-АТФаза участвует в механизме активного транспорта натрия в почках [80], а поскольку дигиталисные гликозиды являются специфическими лигандами Na/K-АТФазы, было высказано предположение (de Wardener) о наличии дигиталисподобных свойств у в то время еще гипотетического натрийуретического гормона [17]. В соответствии с концепцией натрийуретического гормона, основной ролью эндогенного дигиталисного фактора является стимуляция натрийуреза посредством ингибирования Na/K-АТФазы в проксимальных почечных канальцах с последующим снижением реабсорбции натрия [17]. Однако чрезмерная продукция дигиталисподобных КТС способствует вазоконстрикции, так как ингибирование Na/K-насоса в мембране гладкомышечных клеток связано с активацией Na/Ca-обменника [12]. Kojima et al. показали, что антитела к дигоксину снижают артериальное давление у крыс с ДОКА-солевой (ДОКА — дезоксикортикостерон ацетат) гипертензией. Все эти наблюдения инициировали дальнейшие исследования по идентификации «эндогенного дигиталиса». Позже D. Lichtstein et al. выявили наличие производных буфалина в хрусталике млекопитающих и предположили участие этих веществ в развитии катаракты [99]. В 1996 году Hilton масс-спектрометрически идентифицировал вещество буфадиенолидной природы в человеческой плаценте [69]. Впоследствии было показано, что основным претендентом на роль эндогенного дигиталисного фактора является буфадиенолид маринобуфагенин (МБГ) [7, 30, 31].

Кардиотонические стероиды и регуляция экскреции натрия

КТС в низких, «физиологических», концентрациях способны ингибировать активность Na/K-АТФазы в почках, повышая таким образом натрийурез [68]. Циркулирующий в плазме МБГ ингибирует Na/K-АТФазу в почках крыс, притом что α1-субъединица у грызунов имеет пониженную чувствительность к большинству кардиотонических стероидов [35, 127]. У DS- и у нормотензивных Sprague-Dawley-крыс

натрийуретический ответ на острую и хроническую солевую нагрузку связан с существенным увеличением МБГ в плазме и моче [28, 36]. Более того, *in vivo* введение анти-МБГ-антител вызвало снижение экскреции натрия и восстановление активности Na/K-АТФазы [28, 36]. Na/K-АТФаза, частично выделенная из почечных мембран в мягких условиях с добавкой небольшой концентрации додецилсульфата натрия [36], так же как и в случае выделения мембрансвязанной Na/K-АТФазы без детергента, но с последующим добавлением ионофора аламетицина, показала бифазный ответ на ингибирование маринобуфагенином, притом что Na/K-АТФаза в этом материале была представлена только α1-изоформой. [35, 36]. Важно, что в этих условиях почечная Na/K-АТФаза имела высокую степень сродства как с МБГ, так и с эндогенным МБГ-иммунореактивным материалом, выделенным из мочи DS-крыс [35]. Примечательно, что после воздействия постепенно увеличивающихся концентраций додецилсульфата натрия на интактные почечные мембраны бифазная природа МБГ-ингибиторной кривой с высоко- и низкоафинными компонентами постепенно сменилась на монофазную, представляющую одиночную Ki (Федорова, неопубликованные наблюдения). Все эти наблюдения позволили предположить, что степень полимеризации α1-субъединиц Na/K-АТФазы (димеров или тетрамеров) или наличие каких-либо других белков (например, γ-субъединицы Na/K-АТФазы) могут модулировать связывание Na/K-АТФазы с некоторыми КТС, включая МБГ. Кроме того, КТС могут взаимодействовать с другими натрийуретическими гормонами нестероидной природы. Так, а-предсердный натрийуретический пептид (а-ПНП) в низких концентрациях, индуцируя цГМФ/протеинкиназа (ПК)-G-зависимый механизм, увеличивает чувствительность почечной Na/K-АТФазы к МБГ, но в сосудах оказывает противоположный эффект на связывание МБГ с васкулярной Na/K-АТФазой, понижая чувствительность натриевого насоса в сосудистой сарколемме к МБГ [26]. Потенциальная важность этого взаимодействия проиллюстрирована результатами эксперимента, в котором сравнивалось артериальное давление, экскреция натрия, активность натриевого насоса в аорте и в мозговом слое почки, а также количество МБГ, ПНП, и цГМФ у DS и Sprague-Dawley-крыс на солевой нагрузке [6]. В этом эксперименте солевая нагрузка привела к увеличению ПНП в плазме и повышению экскреции цГМФ у нормотензивных крыс, но не у DS-крыс. Солевая нагрузка привела к устойчивому увеличению экскреции МБГ у DS и у Sprague-Dawley-крыс. Систолическое артериальное давление было повышено, и Na/K-АТФаза в аорте была заингибирована у DS на солевой нагрузке, тогда как у нормотензивных крыс артериальное давление и активность натриевого насоса не изменились. Sprague-Dawley выводили в два раза больше натрия в сравнении с Dahl сольчувствительными, а почечная Na/K-АТФаза у них была заингибирована в большей степени, чем у DS. Таким образом, у нормотензивных и DS крыс после солевой нагрузки сопоставимое повышение МБГ было связано с более выраженным ингибированием натриевого насоса у нормотензивных крыс в почках, а у DS — в гладкомышечных клетках соответственно [6]. В результате у Sprague-Dawley-крыс наблюдалось усиление натрийуреза, а у DS — задержка натрия и подъем артериального давления [6]. Отсутствие ответа ПНП на солевую нагрузку у DS крыс является одним из факторов, лежащих в основе разных паттернов ингибирования Na/K-АТФазы у двух разных линий крыс в результате солевой нагрузки.

Другой механизм КТС-опосредованного натрийуреза заключается в активации КТС-индуцированного эндоцитоза Na/K-АТФазы в почках. У Sprague-Dawley-крыс на хронической солевой нагрузке почечная экскреция МБГ достоверно увеличилась, а анти-МБГ-антитела снизили натрийурез и восстановили активность Na/K-АТФазы в корковом слое почки [127]. В том же исследовании было продемонстрировано, что в дополнение к прямому ингибированию Na/K-АТФазы МБГ способен вызывать натриуретический эффект через интернализацию натриевого насоса в проксимальных канальцах [127]. Было показано, что эндоцитоз Na/K-АТФазы в проксимальных канальцах происходит в результате связывания Na/K-АТФазы с КТС с последующим образованием везикул, покрытых клатрином [100, 101]. Для этого требуется активация фосфоинозитид-3-киназы, наличие натриевого насоса в составе кавеолы, а также запуск внутриклеточного каскада Src — РЭФР (РЭФР — рецептор эпидермального фактора роста) [100, 101]. Также было показано, что КТС могут отрицательно влиять на экспрессию одного из мембранных Na/H-обменников, NHE3, в апикальной мембране почечных клеток [103, 124]. Таким образом, увеличение циркулирующего МБГ при солевой нагрузке приводит к снижению транспорта натрия в базолатеральной и апикальной мембранах клеток проксимальных канальцев и, соответственно, снижает задердку натрия как посредством классического или ионного сигнального механизма, так и описанным выше Na/K-АТФаза-Src-РЭФР механизмом.

Эндогенный оуабаин и маринобуфагенин у Dahl сольчувствительных крыс

Эндогенный оуабаин (ОУ) был первым КТС, обнаруженным в человеческой плазме [65, 131], однако у человека ОУ не проявил натрийуретического действия, а периферический уровень этого гормона не изменялся во время хронической солевой нагрузки [110]. Было показано, что у крыс оуабаин имеет высокую аффинность к α2/α3-изоформам Na/K-АТФазы [11], в то время как в клетках почечных канальцев, которые и являются мишенью для «натрийуретического гормона», Na/K-АТФаза представлена в основном α1-изоформой, которая практически не имеет чувствительности к ОУ [30]. Несмотря на то, что физиологические свойства ОУ не полностью соответствуют критериям гипотетического натрийуретического гормона, экспериментальные исследования указывают на несомненно важную роль ОУ в патогенезе сольчувствительной гипертензии.

Lewis Dahl предположил существование прогипертензивного натрийуретического гормона у крыс, развивающих прогрессирующую гипертензию на высокосолевой диете [75], названных Dahl-сольчувствительными крысами. Наша лаборатория исследовала изменения КТС в модели сольчувтвительной гипертензии у этих крыс. Было показано, что на высокосолевой диете (8 % NaCl) у этих животных наблюдалось преходящее увеличение концентрации оуабаина в плазме с последующим прогрессирующим подъемом уровня МБГ в плазме и моче параллельно подъему артериального давления [36]. Введение антител к МБГ DS-крысам со стойкой гипертензией привело к снижению артериального давления, в то время как антитела к ОУ не произвели такого эффекта [36]. Следовательно, именно повышенный уровень МБГ поддерживает высокое артериальное давление у Dahl-сольчувствительных крыс.

При сравнении центрального и периферического уровней УО и МБГ у DS-крыс в ответ как на хроническую, так и на острую солевую нагрузку, было показано, что временный подъем ОУ предшествовал более постоянному подъему МБГ [11, 36].

Так, в ответ на солевую нагрузку уровень ОУ в некоторых зонах мозга (в миндалине, гиппокампе, гипофизе), а также надпочечниках и плазме показал преходящий пиковый ответ, за которым следовал устойчивый подъем уровня МБГ в плазме и моче (рис. 1, а, б) [42]. Согласно этому паттерну, мы предположили существование причинной связи между острым ответом УО и стойким подъемом МБГ, т. е. мозговой УО выполняет функцию триггера продукции МБГ. Согласно этой гипотезе, предварительное введение антител к МБГ крысам на острой солевой нагрузке не ослабило ответного увеличения уровня УО, но предотвратило NaCl-индуцированный подъем артериального давления [42]. В том же эксперименте предварительное введение антител к УО в мозг (интрагиппокампально, 60 пг) DS-крысам на солевой диете значительно понизило NaCl-индуцированную экскрецию МБГ [42].

Takahashi и Leenen в своих работах продемонстрировали, что ответное действие мозгового оуабаина на солевую нагрузку активирует РААС [95, 137].

Позже было показано, что центральная РААС может выступать в качестве фактора, связываю-

Рисунок 1

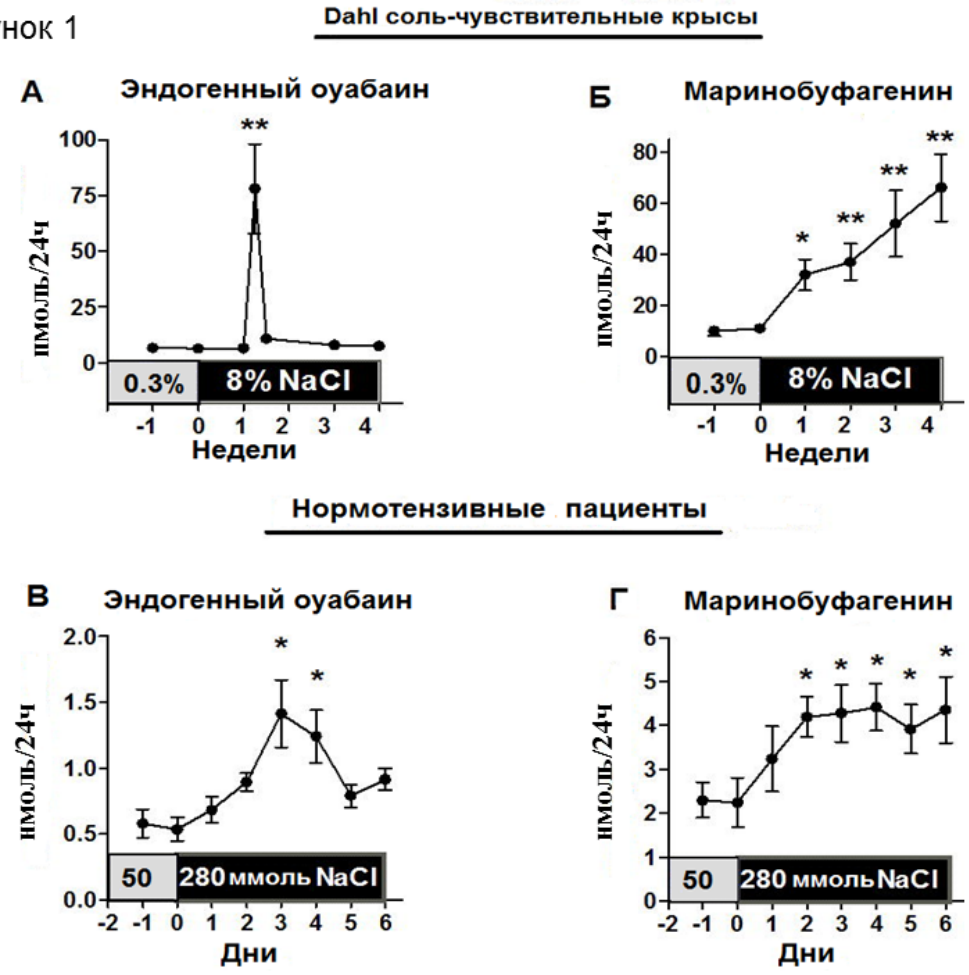

Рис. 1. Преходящий ответ эндогенного оуабаина, предшествующий стойкому увеличению экскреции МБГ во время солевой нагрузки. Представлены похожие паттерны почечной экскреции эндогенных кардиотонических стероидов при солевой нагрузке у Dahl-сольчувствительных крыс (8 % NaCl диета а и б) и дополнительном потреблении соли у нормотензивных субъектов (280 vs. 50 нмоль NaCl в день) (в и г). Статистический анализ представлен однофакторным дисперсионным анализом с Newman-Keuls тестом: * — P<0.05; ** — P<0.01 vs. день 0. Адаптировано из источников [35, 67]

Рисунок 2.

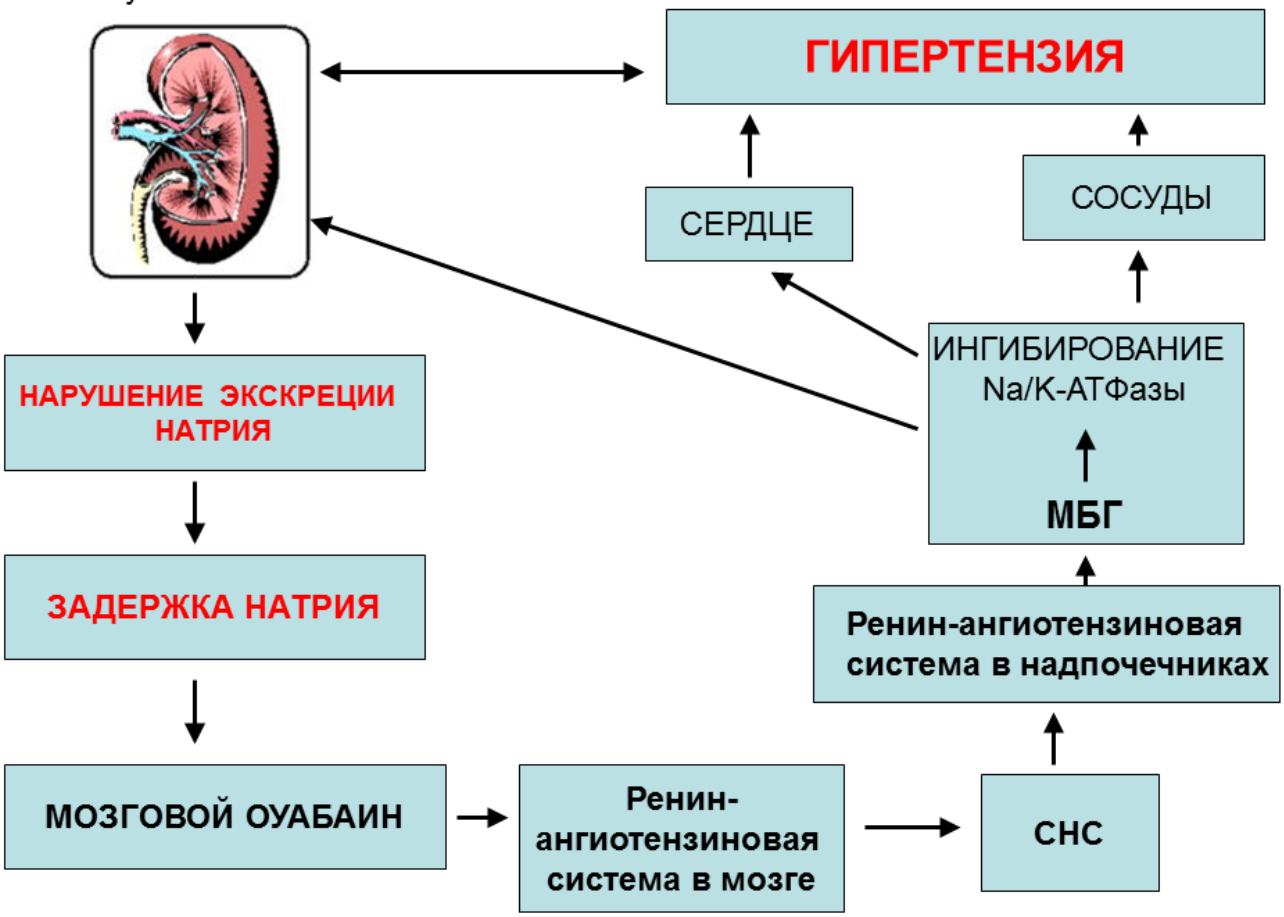

Рис. 2. Взаимодействие между мозговым эндогенным оуабаином, ренин-ангиотензиновой системой и маринобуфагенином в патогенезе сольчувствительной гипертензии. У DS-крыс на солевой нагрузке, при нарушенном транспорте натрия в почках, задержка натрия стимулирует выработке эндогенного оуабаина в гиппокампе, гипоталамусе и гипофизе. Мозговой эндогенный оуабаин стимулирует ренин-ангиотензиновую систему в гипоталамусе и гипофизе, и активирует симпатическую нервную систему, а также ренин-ангиотензиновую систему в коре надпочечников, тем самым стимулируя продукцию МБГ надпочечниками. МБГ продуцируется с первичной адаптивной целью, индуцировать натрийурез посредством ингибирования почечной Na/K-АТФазы. Избыточная продукция МБГ, однако, ведет к ингибированию натриевого насоса в гладкомышечных клетках с последующей вазоконстрикцией

щего центральный (УО) и периферический (МБГ) КТС. Эффекты острой солевой нагрузки на артериальное давление, центральный и периферический УО и ангиотензин II (А II), а также на содержание норэпинефрина (НЭ) и МБГ в плазме и активность Na/K насоса в мозговом слое почки был исследован на 10-недельных DS-крысах [28]. Солевая нагрузка стимулировала преходящее пиковое увеличение УО в гиппокампе и гипофизе с последующим транзитным увеличением продукции А II в гипофизе, увеличением концентрации НЭ в плазме и адренокортикального А II, а также устойчивым увеличением экскреции МБГ, угнетением активности сосудистого Na/K-насоса на 45 % и подъемом артериального давления на 35 мм рт. ст. [28, 42].

В этих же экспериментах, на фоне предварительного введения анти-ОУ или анти-МБГ поликлональных антител, наблюдалась нейтрализация NaCl-индуцированного вазопрессорного ответа и угнетение активности почечной Na/K-АТФазы. Кроме того, центрального введение антител к ОУ до солевой нагрузки также предотвратило увеличение А II в гипофизе и надпочечниках и снизило продукцию МБГ. Периферически введенные анти-МБГ-антитела, напротив, не оказали никакого эффекта на уровень центрального ОУ и А II. В первичной культуре адренокортикальных клеток, полученных от DS-крыс, 1 ммоль/л А II лозартанчувствительным образом, удвоил продукцию МБГ [28]. Таким образом, сожно заключить, что в ответ на солевую нагрузку мозговой ОУ стимулирует адренокортикальный МБГ посредством активации А1-рецепторов. МБГ ингибирует активность Na/K-насоса в почках и увеличивает артериальное давление, то есть ведет себя как натрийуретический гормон [28]. Схематично механизм взаимосвязи центральных и периферических эффектов КТС изображен на рис. 1.

В дальнейшем было продемонстрировано, что интрагиппокампальная администрация ОУ в очень низких дозах DS-крысам имитирует эффекты солевой нагрузки, включая активацию РААС в гипоталамусе и надпочечниках, увеличение количества МБГ в надпочечниках, ингибирование натриевого насоса в сосудах и почке, а также вазопрессорный и натрийуретический эффекты [42]. Важно отметить, что в этом же эксперименте *in vivo* периферическое

введение анти-МБГ-антител реверсировало вышеперечисленные эффекты оуабаина [42].

Хотя релевантность такого сценария с патогенезом человеческой гипертензии все еще не доказана, у нормотензивных человеческих субъектов на солевой нагрузке почечная экскреция КТС имела схожий паттерн, который уже наблюдался у DS на солевой нагрузке, т.е. преходящее увеличение почечной экскреции ОУ, предшествующее более стойкому увеличению экскреции МБГ [5] (Рис. 2).

В нескольких исследованиях были проанализированы механизмы, которые могли бы связывать солевую нагрузку и задержку жидкости с активацией мозгового УО. F. Leenen et al. показали, что увеличение NaCl в цереброспинальной жидкости у крыс предшествует развитию гипертензии [73] и что ионы натрия в мозге входят во внутриклеточное пространство через эпителиальные натриевые каналы [146], работа которых модулируется центральными минералкортикоидными рецепторами [4]. Также Gabor и Leenen продемонстрировали, что иммунонейтрализация мозгового УО у крыс линии Wistar предотвращает потенциирующий эффект эндогенно введенного альдостерона на вазопрессорный ответ, вызванный центральным введением хлорида натрия [51]. Согласно некоторым данным, можно предположить, что специфические натриевые рецепторы вовлечены в этот процесс больше, чем эпителиальные натриевые каналы [120]. Существует предположение, что у DS NaCl-зависимое увеличение концентрации натрия в цереброспинальной жидкости может зависеть от генетически измененной Na/K-АТФазы в хороидном сплетении [3]. Таким образом, аномальная функция натриевого насоса у DS-крыс проявляется не только в повышенной задержки натрия и жидкости [121], но также является триггером в ОУ-зависимых центральных механизмах развития гипертензии, индуцированных солевой нагрузкой [146].

Эндогенный оуабаин и парадигма аддуцина

Несмотря на отсутствие доказательств натрийуретической активности ОУ, некоторые наблюдения позволяют предположить прогипертензивную роль ОУ, включая развитие гипертензии у животных, которым вводился оуабаин [14, 20], а также увеличение уровня ОУ у пациентов с эссенциальной гипертензией [66]. Также описаны два других механизма гипертензивной активности ОУ. В основе одного из этих механизмов лежит так называемая «парадигма аддуцина», а другой основывается на существовании высокочувствительных оуабаинсвязывающих рецепторов в гладкомышечных клетках, которые были предложены в качестве связи между периферическими эффектами ОУ и вазоконстрикцией в процессе развития гипертензии.

У миланских гипертензивных крыс был отмечен повышенный уровень ОУ, а также наличие мутации цитоскелетного протеина, аддуцина, которая ассоциирована с повышенной экспрессией и активностью Na/K-АТФазы в ренотубулярном эпителии [10, 43]. Повышение активности почечной Na/K-АТФазы у миланских гипертензивных крыс основано на изменении времени нахождения Na/K-АТФазы в клеточной мембране в связи с изменением свойств аддуцина, при котором также уменьшается эндоцитоз Na/K-АТФазы, что способствует повышению относительной активности Na/K-АТФазы за счет увеличения количества натриевых насосов в клеточной мембране [22, 43, 141]. Хроническое введение низких доз оуабаина нормотензивным крысам удвоило уровень ОУ в плазме, способствовало подъему артериального давления, а также привело к увеличению количества α1/β1-субъединиц Na/K-АТФазы, Src и РЭФР в изолированных кавеолярных мембранах вместе с активацией экстраклеточно-регулируемой протеинкиназой 1/2 (ЭРП1/2) [43]. Предполагается, что ОУ осуществляет эти эффекты посредством взаимодействия с фракцией оуабаинчувствительной Na/K-АТФазы, локализованной в кавеолах ренотубулярных клеток [43]. В соответствии с этим, введение миланским гипертензивным крысам антагониста оуабаина, ростафуроксина (PST2238), производного дигитоксина, понизило артериальное давление и нормализовало оуабаининдуцированную активацию Na/K-АТФазы в мозговом слое почки [43, 44]. Согласно вышесказанному, у гипертензивных пациентов, имеющих полиморфизм гена аддуцина, реабсорбция натрия в почках изменена [148]. P. Manunta et al. продемонстрировали, что у гипертензивных пациентов, имеющих повышенный уровень ОУ в плазме и мутацию аддуцина, развивается задержка натрия в почках вследствие солевой нагрузки [109].

Повышенный уровень ОУ также может быть причиной подъема артериального давления посредством ингибирования оуабаинчувствительной α2 Na/K-АТФазы, что, в свою очередь, инициирует вход Ca^{2+} через $Na+/Ca^{2+}$-каналы в гладкомышечных клетках сосудистой стенки [20, 152]. Этот механизм был продемонстрирован в эксперименте на трансгенных животных, у которых была экспрессирована оуабаинрезистентная α2 Na/K-АТФаза. В отличие от контрольных мышей с оуабаинчувствительным натриевым насосом, у трансгенных мышей с оуабаинрезистентной α2 Na/K-АТФазой хроническое введение оуабаина не повлияло на уровень артериального давления [20], так как их гладкомышечные клетки оказались нечувствительными к вазопрессорному эффекту оуабаина [21]. Более того, трансгенные мыши с редуцированной экспрессией α2 (но не α1) Na/K-АТФазы имели тенденцию к развитию гипертензии, а в артериях этих трансгенных мышей *in vitro* был показан повышенный сосудистый тонус [152].

Маринобуфагенин: участие в развитии патологических сотояний

Буфадиенолид маринобуфагенин является одним из КТС обнаруженных в плазме млекопитающих [9]. Впервые МБГ был рассмотрен как потенциальный КТС на основании исследований *in vitro*, в которых было показано, что этот стероид в низких концентрациях вызывает вазоконстрикцию изолированных человеческих сосудов и имеет большее сродство к α1-изоформе Na/K-АТФазы, которая является основной изоформой ренотубулярного эпителия [7, 30, 31], а

также широко распространена в гладкомышечной сарколемме сосудов [31]. У людей с нормальным уровнем артериального давления при солевой нагрузке было обнаружено увеличение количества МБГ в плазме, а также повышенное суточное выведение этого стероида [5]. У нормотензивных крыс и у собак острая и хроническая солевая нагрузка также вызывала повышение уровня МБГ в плазме [8, 29, 32].

Увеличение продукции МБГ наблюдается при объемзависимых формах гипертензии, таких как эссенциальная гипертензия, первичный альдостеронизм, хроническая почечная недостаточность [53], застойная сердечная недостаточность [50], а также беременность [107]. Кроме того, известно, что уровень МБГ в плазме и плаценте в случае развития преэклампсии существенно повышается [40, 107]. У гипертензивных DS-крыс, а также у беременных крыс с гипертензией, вызванной солевой нагрузкой, введение моноклональных антител к МБГ привело к понижению артериального давления и восстановлению активности Na/K-насоса в сарколемме гладкомышечных волокон сосудистой стенки [37]. Komiyama et al. используя метод хроматографической очистки (HPLC), выделили из плазмы людей МБГ и телоцинобуфагин (ТЦБ), являющийся возможным предшественником МБГ [88]. Эти исследователи обнаружили, что уровни ТЦБ и МБГ достоверно повысились в плазме пациентов с уремией [88]. Позднее эта же группа ученых продемонстрировала, что мышиные адренокортикальные Y1-клетки вырабатывают МБГ и его конъюгированную форму, маринобуфотоксин [151]. Также было показано снижение количества дигоксинподобного иммунореактивного материала [19] и МБГ у крыс при адренэктомии [23], что указывает на то, что МБГ и другие кардиотонические стероиды синтезируются в надпочечниках.

Большое количество буфадиенолидов содержится в коже и в околоушных железах некоторых видов амфибий. В древние времена буфадиенолиды, полученные из кожи амфибий, использовались в традиционной восточной медицине для лечения сердечной недостаточности [9], поэтому эти стероиды относятся к классу КТС. У амфибий кожа участвует в регуляции водно-электролитного баланса, таким образом, Na/K-АТФаза и буфадиенолиды представляют собой систему, отвечающую за регуляцию водно-солевого гомеостаза [47].

Биосинтез маринобуфагенина

Механизм биосинтеза буфадиенолидов до конца не изучен. Известно, что стероидные молекулы образуются из холестерола, и традиционный биосинтез биологически активных стероидов начинается с отщепления боковой цепи холестерола ферментом CYP11A1 с последующим преобразованием в прегненолон [112, 125], однако известно, что этот механизм не вовлечен в биосинтез МБГ [18]. Помимо «традиционного» стероидогенеза, существуют другие биосинтетические пути образования биологически активных стероидов, в которых преобразование холестерола регулируется ферментами CYP7A1 в печени [78] и CYP27A1 в остальных «внепеченочных» тканях, включая надпочечники [96, 115, 128, 144]. Так как МБГ синтезируется вне печени в адренокортикальном слое надпочечников и в плаценте [27, 38, 40], а CYP7A1 экспрессируется только в печени [78], было предположено, что у млекопитающих МБГ синтезируется через внепеченочный путь, в котором холестерол окисляется в желчные кислоты гидролазой CYP27A1. Чтобы проверить эту гипотезу, было изучено влияние подавления экспрессии гена CYP27A1 методом РНК-интерференции в адренокортикальных клетках DS-крыс, что произвело существенное понижение количества МБГ. Таким образом, синтез МБГ осуществляется из холестерола и контролируется ферментом CYP27A1, который инициирует «кислотный» путь преобразования холестерола в желчные кислоты, которые и являются предшественниками буфадиенолидов, включая МБГ [41].

Эта гипотеза была также подтверждена на модели сольчувствительной гипертензии. У гипертензивных самцов и самок линии Dahl Salt-Sensitive после 4-х недель солевой нагрузки увеличилось количество МБГ в плазме, а также уровень адренокортикального CYP27A1 mRNA и CYP27A1 протеина по сравнению с группой животных на низкосолевой диете [41].

Интересно, что у самок DS-крыс циркулирующий МБГ в 2 раза ниже, чем у самцов, и это сопровождается более низким систолическим артериальным давлением у самок, чем у самцов, до солевой нагрузки. Это позволяет предположить о том, что низкий уровень циркулирующего МБГ у самок является адаптивным механизмом, так как во время беременности в плаценте синтезируется дополнительный МБГ, как было продемонстрировано ранее [40, 41].

Маринобуфагенин и фиброз

Появляется все больше и больше доказательств, что вклад КТС в патогенез гипертензии не ограничивается вазоконстрикцией и ухудшением экскреции натрия почками. Открытие сигнальной функции натриевого насоса, а также идентификация специфических механизмов, лежащих в основе эффектов низких доз КТС, на клеточный рост, развитие и апоптоз добавило новые аспекты в сфере изучения патофизиологической роли этих гормонов [9]. Большинство исследований в последние годы указывают на вовлечение КТС в механизмы развития фиброза. Существуют экспериментальные доказательства того, что классический «ионный механизм» может быть недостаточным для объяснения воздействия КТС на Na/K-АТФазу как *in vitro*, так и *in vivo*. Так, например, КТС воздействует на фосфорилирование ключевого сигнального протеина РЭФР и активирует профиброзный механизм в клеточной культуре, где концентрация натрия постоянна [145].

Одно из доказательств в пользу существования альтернативной, или сигнальной, функции Na/K-АТФазы было представлено в работе [97], в которой было показано, что Na/K-АТФаза участвует в клеточной сигнальной трансдукции посредством Src и РЭФР, расположенных в кавеолах, и в данном случае

не осуществляет активный транспорт натрия или калия [97]. Инкубация нескольких типов клеточных культур с КТС вызывает быстрое фосфорилирование РЭФР, которое зависит от Src и отчетливо отличается от аутофосфорилирования РЭФР [60, 61]. Помимо РЭФР, в этот сигнальный путь вовлечены и другие протеины, включая фосфолипазу С (ФЛС), TRP-белки, фосфоинозитид-3 киназу (ФИ3К) и несколько изоформ протеинкиназы С (ПКС) [87, 104, 105, 111, 138, 145]. Кавеолярная Na/K-АТФаза, расположенная рядом с Src, тем самым поддерживает Src в неактивной форме, а связывание КТС с Na/K-АТФазой приводит к изменению конформации молекулы Na/K-ATPase, что меняет взаиморасположение между Na/K-АТФазой и Src, восстанавливая активность Src. Src в активной форме способен фосфорилировать другие протеины [138]. Кроме того, было отмечено, что связывание КТС с Na/K-АТФазой в плазмалемме индуцирует эндоцитоз КТС-Na/K-АТФаза- Src-РЭФР комплекса [100–102, 127]. Образование комплекса КТС с Na/K-АТФазой инициирует увеличение продукции внутриклеточных активных форм кислорода (АФК), которое зависит от функции РААС [129]. Развившиеся в результате связывания КТС с Na/K-АТФазой биохимические (например, активация ЭРП) и физиологические (например, увеличение ионов Ca^{2+} в цитозоле) процессы могут быть предотвращены помощью антиоксидантов [83, 104, 129, 150].

Возможность участия КТС в механизме развития фиброза была предположена в результате следующих экспериментов. В начале было обнаружено огромное количество кардиального фиброза у крыс и у мышей с экспериментальной почечной недостаточностью [23, 81, 83]. У человека кардиомиопатия, ассоциированная с почечной недостаточностью, также осложнена фиброзом [106, 108]. Активная иммунизация МБГ с использованием конъюгированного с альбумином МБГ, а также адренэктомия, вызвавшая снижение уровня циркулирующего МБГ, предотвратили кардиальный фиброз, развившийся в результате экспериментальной почечной недостаточности. Введение МБГ животным в том же количестве, что было детектировано в плазме животных с экспериментальной почечной недостаточностью, вызвало кардиальный фиброз в подобном проявлении [23, 83]. Наряду с миокардиальным фиброзом, наблюдалась активация сигнального пути опосредованного Na/K-АТФазой, что было подтверждено увеличением Src и фосфорилированием митогенактивируемых протеинкиназ (МАПК) в миокарде [23, 83]. Основываясь на вышеописанных *in vivo* результатах, было исследовано, влияют ли МБГ или другие КТС на рост фибробластов в клеточной культуре. Сначала было замечено, что и МБГ, и другие КТС (например, оуабаин, дигоксин) вызывают увеличение количества встроенных пролиновых остатков, а также повышают синтез коллагена в культуре фибробластов. Это наблюдение явилось еще одним доказательством наличия у комплекса Na/K-АТФаза КТС сигнальной функции, при которой наблюдалась активация Src и МАПК. При этом добавление в инкубационную среду антиоксидантов или ингибиторов Src предотвращало инкорпорацию пролина и синтез коллагена [23]. Так же было замечено увеличение количества коллагеновой мРНК после инкубации миокардиальных фибробластов с МБГ [23]. Интересно, что в этом эксперименте уровни трансформирующего ростового фактора бета (ТРФ-β) и SMAD-белков не изменились, но антагонист синтеза ТРФ- β, SB421542, заблокировал МБГ-индуцированную стимуляцию синтеза коллагена [23]. Было показано, что в культуре нескольких типов фибробластов (миокардиальных, почечных и дермальных) экспрессия негативного регулятора синтеза коллагена Fli-1 [24] зависит от МБГ-индуцированной сигнальной трансдукции [89]. Кроме того, снижение Fli-1 экспрессии является необходимым условием для МБГ-индуцированного увеличения синтеза коллагена [24]. Дальнейшие исследования продемонстрировали, что МБГ является индуктором транслокации протеинкиназы С-дельта (ПКС-γ) из цитозоля в ядро ФЛС-зависимым способом, а также что транслокация ПКС-γ способствует фосфорилированию и последующей деградации Fli-1 [24].

АД-независимый профибротический эффект МБГ

Впервые отсутствие эффекта на артериальное давление при повышенном уровне МБГ в плазме было замечено у нормотензивных крыс после 5-ти недель солевой нагрузки [29, 34]. В эксперименте сравнивался эффект солевой нагрузки и социальной изоляции на уровень КТС и артериальное давление у нормотензивных животных. Интересно отметить, что солевая нагрузка, спровоцировавшая увеличение маринобуфагенина в плазме, не повлияла на уровень артериального давления, но поспособствовала ремоделированию миокарда и почек. Было предположено, что у крыс, не обладающих сольчувствительностью, МБГ, связываясь с Na/K-АТФазой, активирует профибротический эффект в АД-независимой манере.

Позже было изучено влияние солевой нагрузки на ремоделирование стенки аорты у нормотензивных крыс, а также возможность обратимости этого эффекта МБГ иммунонейтрализацией [58]. После 4-х недель солевой нагрузки был показан повышенный уровень МБГ как в плазме, так и в моче, ассоциированный с заингибированной эритроцитарной Na/K-АТФазой, при отсутствии изменений артериального давления. Кроме того, в стенке аорты был отмечен выраженный фиброз, что уже наблюдалось в экспериментах *ex vivo* в инкубированных с МБГ в наномолярных концентрациях эксплантах аорты [33]. После 24-х часовой инкубации с МБГ сосуд также продемонстрировал снижение способности к расслаблению нитропруссидом натрия [33], что и повторилось *in vivo* в настоящем эксперименте [58]. Иммунонейтрализация моноклональными антителами обусловила понижение экскреции МБГ, восстановление активности натриевого насоса, а также значительно меньшую степень накопления коллагена в стенке аорты. Предположительный механизм, описанный ранее, заключается в связывании МБГ с Na/K-АТФазой и последующей акивацией внутри-

клеточного каскада, в результате которого фосфорилируется Fli-1 (негативный регулятор промоутера синтеза коллагена-1), что стимулирует избыточную продукцию коллагена.

Таким образом, у нормотензивных крыс солевая нагрузка стимулирует МБГ-зависимое ревесируемое ремоделирование сосудистой стенки АД-независимым образом.

Роль МБГ в патогенезе хронической почечной недостаточности

Более 30-ти лет назад Bricker сообщал в своих публикациях о существовании гуморального фактора, который компенсаторно увеличивается при поражении почек с целью снижения ретенции натрия посредством усиления натрийуреза [13]. Кроме того, автор говорил о возможности побочного эффекта данного гормона на другие органы и ткани, усугубляющего уремический синдром, что было названо концепцией "trade off".

S. Graves, тестируя метод определения дигоксина в человеческой плазме, отметил, что данный метод имел множественное количество ложноположительных результатов в плазме пациентов с уремией, не получающих дигоксин. Это наблюдение объяснялось результатом перекрестного иммунореагирования антител к дигоксину с эндогенными дигиталисподобными веществами [56].

S. Huot, работая на модели почечной недостаточности у крыс с нефрэктомией, обнаружил, что Na/K-АТФаза в миокардиальных клетках ингибируется неидентифицированным гуморальным фактором предположительно оуабаинподобной природы, который также причастен к развитию гипертензии в данном состоянии [70].

Позднее несколько авторов опубликовали данные о присутствии оуабаина в плазме пациентов, страдающих почечной недостаточностью [114, 135], что создавало противоречие с представленной ранее теорией центрального триггерного действия оуабаина и последующих периферических эффектов МБГ. С использованием метода высокоэффективной жидкостной хроматографии и специфичных к оуабаину и маринобуфагенину антител было продемонстрировано, что в плазме уремических больных по сравнению со здоровыми пациентами увеличивается количество маринобуфагенина [86]. При этом уровень оуабаина в плазме здоровых пациентов и пациентов с почечной недостаточностью не отличался. Данное наблюдение, возможно, объясняется разной специфичностью антител к оуабаину, использовавшихся разными авторами [86, 114, 135].

Роль МБГ в развитии уремической каодиомиопатии была изучена у крыс после нефрэктомии. В данном эксперименте было показано, что МБГ участвует в развитии гипертензии, способствует гипертрофическому ремоделированию стенки левого желудочка, что обуславливает диастолическую дисфункцию [85].

Сходные результаты были получены при инфузии 10 мкг/кг МБГ в течение 4-х недель, что подтверждает участие МБГ в развитии уремической кардиомиопатии [83]. Более того, предварительная иммунизация к МБГ оказала защитный эффект, ослабив профибротическое действие маринобуфагенина и предотвратив гипертрофию левого желудочка [83]. Более эффективное действие продемонстрировали специфические 3E9-антитела к МБГ, реверсировав фиброз миокарда при экспериментальной уремической кардиомиопатии [64].

МБГ и преэклампсия

О вовлечении КТС в развитие преэклампсии было известно более 30 лет назад, Graves уже тогда говорил об увеличении дигоксинподобного материала в плазме беременных женщин в сравнении с контролем, а также в плазме пациенток с индуцированной беременностью гипертензией [57]. Основываясь на данных о свойстве маринобуфагенина вызывать вазоконстрикцию при объемзависимой гипертензии, которая и случается при патологической беременности, была выдвинута гипотеза о вовлечении МБГ в патогенез преэклампсии [107]. В результате эксперимента было показано увеличение циркулирующего в плазме МБГ в три раза у пациенток с нормально протекающей беременностью и восьмикратное увеличение МБГ в случае преэклампсии [107]. В этом же исследовании был изучен вазоконстрикторный эффект МБГ, опосредованный ингибированием Na/K-АТФазы в умбиликальных артериях. В умбиликальных артериях маринобуфагенин вызвал вазоконстрикцию в концентрации в три раза меньшей, чем в плазме пациениток с преэклампсией [107]. Таким образом, уровень циркулирующего МБГ при преэклампсии является достаточным для развития вазоконстрикторного эффекта в гладкомышечных клетках сосудистой стенки [107]. Последние исследования, направленные на изучение синтеза МБГ, показали, что клетки человеческого трофобласта JEG-3 способны синтезировать МБГ [41]. А при сравнении количества МБГ в плаценте пациенток, страдающих преэклампсией, с контрольной группой было продемонстрировано его четырехкратное увеличение [116].

Кроме того, многие авторы говорят о негативном воздействии МБГ на дифференцировку клеток трофобласта в первом триместре беременности, что приводит его неполной инвазии. Таким образом, повышенная продукция МБГ в первом триместре может способствовать развитию преэклампсии в будущем [92, 130].

Основываясь на результатах предыдущих исследований, в которых было продемонстрировано участие МБГ в развитии фиброза, этот механизм был показан также на модели преэклампсии [116]. Умбиликальные артерии, полученные от беременных женщин, страдавших преэклампсией, содержали большее количество коллагена, Fli-1, а также продемонстрировали низкую чувствительность к вазорелаксантному эффекту нитропруссида натрия. В этом же эксперименте инкубация с высокоспецифичными антителами к МБГ восстановила активность Na/K-АТРазы до уровня, близкого к контрольному. А при сравнении эффективности специфичных антител с антидигоксиновыми (DigiFab) было показано, что

моноклональные антитела восстанавливают активность ингибированной преэклампсией Na/K-АТРазы в эритроцитах лучше, чем DigiFab, что позволяет предположить вовлечение МБГ в патогенез преэклампсии в большей степени, чем остальных КТС [74].

Иммунонейтрализация МБГ

За последние 10 лет были разработаны и апробированы на экспериментальной модели сольчувствительной гипертензии и преэклампсии специфические моноклональные антитела к маринобуфагенину в качестве антигипертензивного агента. В начале поликлональные антитела к МБГ и ОУ использовались для определения специфической роли как МБГ, так и ОУ в развитии натриуретического ответа и повышения АД при солевой нагрузке на модели сольчувствительной гипертензии [38]. В отличие от антител к ОУ, которые не повлияли ни на уровень артериального давления, ни на активность натриевого насоса, антитела к МБГ понизили давление у DS-крыс на высокосолевой нагрузке, а также восстановили активность Na/K-АТРазы до контрольного уровня [38].

Задолго до того, как МБГ был изучен в качестве причины развития преэклампсии, Goodlin опубликовал статью об использовании во врачебной практике антидигоксиновых антител (Digibind) в лечении эклампсии [54]. Digibind получил широкое распространение в терапевтической практике для облегчения симптомов преэклампсии [1, 2, 91], что, возможно, объясняется наличием перекрестной реактивности с КТС [40]. В связи с растущими доказательствами роли МБГ в патогенезе преэклампсии на модели преэклампсии у крыс были протестированы специфические поликлональные антитела к маринобуфагенину [116]. Показав гипотензивный эффект, анти-МБГ антитела восстановили активность Na/K-АТРазы в сарколемме гладкомышечных клеток аорты [116]. Позже были разработаны моноклональные антитела, 2 клона — 3E9 и 4G4 [37]. 3E9-антитела, несмотря на более низкую аффинность к МБГ, показали лучшую функциональную способность реверсировать эффекты МБГ. Антигипертензивный эффект 3E9-антител был сравнен с Digibind на модели сольчувствительной гипертензии и у беременных крыс на солевой нагрузке. Как и Digibind, 3E9 имели гипотензивное действие у DS-крыс на 8 % солевой нагрузке, однако эффект был более выраженным и стойким [37]. Кроме того, в эксперименте *ex vivo* 3E9 реактивировали эритроцитарную Na/K-АТРазу беременных женщин, страдающих преэклампсией, активность которой была подавлена на 50%, в то время как Digibind в высокой дозе (10мкг/мл) смог лишь частично восстановить активность натриевого насоса [37]. 4G4-антитела в настоящее время используются для количественной оценки МБГ, так как иммунологический анализ на основе этих антител является высокочувствительным [37].

Позже действие 3E9-антител было изучено на экспериментальной модели почечной недостаточности в сравнении с Digibind [64]. В эксперименте оценивался антигипертензивный эффект, а также способность реверсировать миокардиальный фиброз. В результате одной инъекции моноклональных 3E9 антител нефрэктомизированным крысам, развившим синдром уремической кардиомиопатии, удалось реверсировать миокардиальный фиброз. Кроме того, 3E9-антитела продемонстрировали выраженный и стойкий, длящийся в течение одной недели, антигипертензивный эффект. При этом после инъекции Digibind САД понизилось лишь временно, а через 24 часа гипотензивный эффект нейтрализовался полностью. В дополнение к антигипертензивному эффекту и 3E9 и Digibind в различной степени понизили уровень плазменного креатинина и восстановили его клиренс [64].

Изучение эффектов 3E9 антител на этом не остановилось, и, основываясь на предудыщих наблюдениях касательно профиброзного эффекта МБГ в миокарде, а также в умбиликальных сосудах, была предположена гипотеза об антифибротическом эффекте моноклональных антител в гладкомышечных клетках сосудов в условиях МБГ опосредованного АД-независимого фиброза крупных сосудов [58]. В соответствии с предыдущими наблюдениями, в данном эксперименте подтвердилось, что у нормотензивных животных повышенный уровень МБГ не влияет на артериальное давление [29, 116], но спсобствует накоплению коллагена в стенке сосуда, снижая его вазорелаксантную способность, а моноклональные антитела 3E9, блокируя связывание МБГ с Na/K-АТРазой, реверсируют фиброз, тем самым улучшая функциональные свойства сосуда [58].

Антагонисты альдостерона: влияние на взаимодействие МБГ с Na/K-АТФазой

Известно, что антагонисты минералкортикоидов реверсируют миокардиальный фиброз [140]. Принимая во внимание тот факт, что МБГ индуцирует фиброз в кардиоваскулярной системе через Fli-1-зависимый механизм, мы исследовали эффекты спиронолактона и его основного метаболита, канренона, на фиброз в серии экспериментов *in vitro* и *in vivo* [140]. Было продемонстрировано, что и спиронолактон, и канренон ослабляют индуцированное МБГ увеличение синтеза коллагена миокардиальными фибробластами [140], что было подтверждено in vivo отчетливым уменьшением кардиального фиброза, вызванного экспериментальной почечной недостаточностью, в результате лечения спиронолактоном [140]. Примечательно, что *in vitro* значительний эффект альдостерона на продукцию коллагена в сердце отсутствовал. Как было показано ранее, канренон и спиронолактон выступают в роли конкурирующих ингибиторов связывания КТС и Na/K-АТФазы [16, 45, 133, 140]. Как было упомянуто выше, эффект МБГ (а также других КТС) не специфичен для миокардиальных фибробластов. Так, почечные фибробласты имеют схожий ответ с миокардиальными фибробластами [25], что позволяет предположить, что МБГ потенциально может быть вовлечен в развитие ренального фиброза. Было показано, что введение МБГ нормотензивным крысам в течение 4-х

недель сопровождалось увеличением содержания коллагена в почках. При этом Snail, транскрипционный фактор, вовлеченный в эпителиально-мезенхимальную трансформацию (ЭМТ), был активирован у животных после введения МБГ [25]. В клеточной культуре LLC-PK1 было показано, что степень ЭМТ зависит от дозы МБГ и времени инкубации [25]. Эти результаты позволяют объяснить, почему у людей высокосолевая диета ведет к развитию гипертензии и ухудшению почечной функции через довольно длительный временной период.

Возвращаясь к неспецифичности профибротического эффекта МБГ, недавно было продемонстрировано участие МБГ в стимуляции синтеза коллагена-1 гладкомышечными клетками сосудов в дозозависимой манере [33]. В этой работе было показано, что канренон способен реверсировать про-фибротический эффект МБГ [33]. Эти данные позволили предположить, что МБГ индуцирует ремоделирование сосудистой стенки, а канренон антагонизирует этот эффект МБГ. Это гипотеза была проверена *in vitro* в эксперименте с использованием колец крысиной аорты, которые инкубировали с МБГ, канреноном и в их комбинации [33]. Сосуды, инкубированные с МБГ, содержали большее количество коллагена и показали худшую способность к расслаблению нитропруссидом натрия, а экспрессия Fli-1 была значительно снижена. При этом добавление канренона в инкубационную среду с МБГ привело к восстановлению способности колец аорты к расслаблению. Канренон также реверсировал фиброз и экспрессию Fli-1, вызванные МБГ [33]. В дополнение было проведено клиническое исследование, в котором изучалось влияние спиронолактона на сосудистую жесткость у пациентов с резистентной гипертензией [33].

Прием спиронолактона (50 мг/день) в течение 6-ти месяцев дополнительно к основной терапии (ингибитор АПФ — лизиноприл 20 мг/день, блокатор кальциевых каналов — амлодипин 10 мг/день, диуретик гидрохлортиазид 25 мг/день) снизил систолическое и диастолическое артериальное давление, восстановил пониженную активность Na/K-АТРазы в эритроцитах, а также в небольшой мере, но достоверно понизил скорость распространения пульсовой волны у пациентов с изначально повышенным уровнем МБГ в плазме [33]. Примечательно, что вышеописанные эффекты спиронолактона у пациентов с резистентной гипертензией наблюдались на фоне повышенного МБГ в плазме [33].

В дополнение к потенциальному участию КТС в развитии уремической кардиомиопатии и почечного фиброза [23, 24, 83] КТС-индуцированный синтез коллагена может быть одним из факторов сосудистой дисфункции в преэклампсии. За последние несколько лет было показано, что развитие преэклампсии сопровождается повышенным уровнем МБГ в плазме и плаценте, пониженным уровнем Fli-1 в плаценте, а также значительно большим уровнем коллагена-1 в умбиликальных артериях [117]. Примечательно, что *in vitro* кольца умбиликальных артерий от пациенток, страдавших преэклампсией, показали значительное снижение ответа на вазорелаксантный эффект нитропруссида натрия по сравнению с сосудами, полученными от субъектов с неосложненной беременностью, при том что ответ на эндотелин-1 не изменялся [117].

МБГ-индуцированный синтез коллагена также был показан у нормотензивных крыс на солевой нагрузке [70]. В данном эксперименте крысы линии Вистар находились на высокой солевой нагрузке в течение 4-х недель, что вызвало небольшое повышение уровня МБГ в плазме и стимулировало синтез коллагена в аорте.

Примечательно, что уровень артериального давления остался без изменений, что уже наблюдалось в предыдущих экспериментах с нормотензивными животными на солевой нагрузке [29]. При этом моноклональные 3E9-анти-МБГ-антитела показали антифибротический эффект [58], тем самым восстановив способность сосудов к расслаблению нитропруссидом натрия. Таким образом, МБГ инициирует увеличение жесткости сосудов, а его иммунонейтрализация демонстрирует возможность терапии, направленной на улучшение функциональных свойств сосудистой стенки посредством изменения морфологии.

Хотя большая часть нашей дискуссии посвящается более «новой» сигнальной функции натриевого насоса, классическая концепция КТС, выступающих в роли ингибиторов насосной функции Na/K-АТФазы, все еще уместна. Например, хорошо известно что у пациентов на конечной стадии почечной недостаточности [49, 90], или преэклампсии [37], так же как и у DS-крыс на солевой нагрузке [28, 36] эритроцитарная Na/K-АТФаза угнетается, что может быть реверсировано инкубацией, *ex vivo* с антителами к МБГ или с Digibind, бычьими дигоксиновыми антителами, которые взаимодействуют с КТС [11, 37, 126]. Таким образом, классический и альтернативный пути могут работать как параллельно, так и синергически для осуществления физиологического эффекта КТС, следующего за связыванием КТС с Na/K-АТФазой.

Благодаря полученным результатам, представляется возможной перспектива изучения клеточной КТС-индуцированной сигнальной трансдукции с целью развития новых терапевтических подходов.

Влияние диетического понижения хлорида натрия на МБГ

Важность количества потребляемой соли в развитии гипертензии была показана еще в начале 70-х годов, когда были опубликованы результаты исследования уровня артериального давления и других параметров, имеющих отношение к гипертензии у индейцев племени Яномамо [119]. Было показано, что с возрастом у них не развивается гипертензия. Изолированная от цивилизации популяция не употребляла в пищу соль, а ежедневный рацион был насыщен продуктами с высоким содержанием калия, что и подтвердилось измерением электролитов в плазме крови и их экскреции. Кроме того, измерив альдостерон и активность ренина в плазме, исследователи увидели, что при отсутствии подъема артериального давления у данной популяции РААС все же была стимулирована [119].

Во многих исследованиях на обычной популяции людей было продемонстрировано, что систолическое артериальное давление и сольчувствительность увеличиваются в процессе старения [49, 90, 123, 149]. В результате лонгитудинальных исследований была установлена последовательность одного из патогенетических звеньев развития гипертензии в процессе старения: увеличение жесткости сосудистой стенки предшествует развитию гипертензии [79, 113]. Ограничение потребления соли как превентивная мера в развитии гипертензии уже доказало свою эффективность не только результатом снижения артериального давления, но и улучшением эластических свойств крупных артерий [52, 132].

Однако механизм данных явлений все же остается малоизученным. МБГ, известный как натрийуретический гормон, вовлеченный в развитие солечевуствительной гипертензии и фиброза сосудов, был рассмотрен в качестве предположительного участника данного механизма. Jablonski и др. показали, что ограничение потребления соли снижает экскрецию МБГ, что косвенно говорит о снижении продукции МБГ у пациентов, находящихся на низкосолевой диете [77]. Кроме того, такие параметры, как САД и скорость распространения пульсовой волны, у пациентов уже после 10-дней низкосолевой диеты была достоверно ниже, чем у пациентов с нормальным содержанием соли в диете. Таким образом, результаты данного исследования предполагают связь между снижением экскреции и МБГ и улучшением эластических свойств сосудистой стенки как один из возможных механизмов, в котором МБГ выступает в качестве основной причины развития гипертензии посредством увеличения сосудистой жесткости с возрастом. Ограничения продукции МБГ посредством уменьшения количества соли в диете, как и иммунонейтрализация МБГ, представляет собой возможность улучшения морфологических свойств сосудов и предупреждения развития сольчувствительной гипертензии.

Заключение

На основании множественных исследований, базирующиеся на предпосылках deWardener, Blaustein, а также других ученых [12, 15, 17, 59, 62, 122], было доказано существование эндогенных ингибиторов Na/K-АТРазы у млекопитающих. В настоящее время известно, что эндогенный кардиотонический стероид МБГ является натриуретическим гормоном, а также участвует в активации фиброза в кардиоваскулярных и почечных тканях. Описанная в последние годы сигнальная функция комплекса Na/K-АТФаза-МБГ представила целый ряд потенциальных терапевтических мишеней как для уже существующих препаратов, так и для препаратов, находящихся на стадии разработки, направленных на лечение таких заболеваний, как артериальная гипертензия, преэклампсия и почечная недостаточность.

Литература

1. *Adair C. D., Buckalew V., Taylor K. et al. Elevated endoxin-like factor complicating a multifetal second trimester pregnancy: treatment with digoxin binding immunoglobulin // Am. J. Nephrol. 1996. № 16. P. 529–531.*
2. *Adair C. D., Luper A., Rose J. C. et al. The hemodynamic effects of intravenous digoxin-binding fab immunoglobulin in severe preeclampsia: a double-blind, randomized, clinical trial // J. Perinatol. 2009. № 29. P. 284–289.*
3. *Amin M. S., Reza E., Wang H. Sodium transport in the choroid plexus and salt-sensitive hypertension // Hypertension. 2009. № 54. P. 860–867.*
4. *Amin M. S., Wang H. W., Reza E. et al. Distribution of epithelial sodium channels and mineralocorticoid receptors in cardiovascular regulatory centers in rat brain // Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol. 2005. № 289. P. R1787–R1797.*
5. *Anderson D. E. , Fedorova O. V., Morrell C. H. 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. P. R1248–R1254.*
6. *Bagrov A. Y., Agalakova N. I., Kashkin V. A., Fedorova O. V. Endogenous cardiotonic steroids and differential patterns of sodium pump inhibition in NaCl-loaded salt-sensitive and normotensive rats // Am. J. Hypertens. 2009. № 22. P. 559–563.*
7. *Bagrov A. Y., Dmitrieva R. I., Fedorova O. V. et al. Endogenous marinobufagenin-like immunoreactive substance. A possible endogenous Na,K-ATPase inhibitor with vasoconstrictor activity // Am. J. Hypertens. 1996. № 9. P. 982–990.*
8. *Bagrov A. Y., Fedorova O. V., Dmitrieva R. I. et al. Plasma marinobufagenin-like and ouabain-like immunoreactivity during saline volume expansion in anesthetized dogs // Cardiovasc. Res. 1996. № 31. P. 296–305.*
9. *Bagrov A. Y., Shapiro J. I., Fedorova O. V. Endogenous cardiotonic steroids: physiology, pharmacology, and novel therapeutic targets // Pharmacol. Rev. 2009. № 61. P. 9–38.*
10. *Bianchi G., Tripodi G., Casari G. et al. Two point mutations within the adducin genes are involved in blood pressure variation // Proc. Natl. Acad. Sci USA. 1994. № 26. P. 3999–4003.*
11. *Blanco G., Mercer R. W. Isozymes of the Na/K-ATPase: heterogeneity in structure, diversity in function // Am. J. Physiol. 1988. № 275. P. F633–F650.*
12. *Blaustein M. P. Sodium ions, calcium ions, blood pressure regulation and hypertension: A reassessment and a hypothesis // Am. J. Physiol. 1977. № 232. P. C167–C173.*
13. *Bricker N. S. On the pathogenesis of the uremic state. An exposition of the "Trade off Hypothesis" // N. Engl. J. Med. 1972. № 286. P. 1093–1099.*
14. *Briones A. M., Xavier F. E., Arribas S. M. et al. Alterations in structure and mechanics of resistance arteries from ouabain-induced hypertensive rats // Am. J. Physiol. Heart Circ Physiol. 2006. № 291. P. H193–H201.*
15. *Dahl L. K., Knudsen K. D., Iwai J. Humoral*

transmission of hypertension: Evidence from parabiosis // Circ. Res. 1969. № 24. Suppl. 5. P. 21–33.

16. de Mendonça M., Grichois M. L., Pernollet M. G. et al. Antihypertensive effect of canrenone in a model where endogenous ouabain-like factors are present // J. Cardiovasc. Pharmacol. 1988. № 11. P. 75–83.

17. DeWardener H. E., Clarkson E. M. Concept of natriuretic hormone // Physiol Rev. 1985. № 65. P. 658–759.

18. Dmitrieva R. I., Bagrov A. Y., Lalli E. et al. Mammalian bufadienolide is synthesized from cholesterol in the adrenal cortex by a pathwaybwhich is independent of cholesterol side-chain cleavage // Hypertension. 2000. № 36. P. 442–448.

19. Doris P. A. Immunological evidence that the adrenal gland is a source of an endogenous digitalis-like factor // Endocrinology. 1988. № 123 (5). P. 2440–2444.

20. Dostanic-Larson I., Lorenz J. N., Van Huysse J. W. et al. Physiological role of the α1- and α2-isoforms of the Na-K-ATPase and biological significance of their cardiac glycoside binding site // Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol. 2006. № 290. P. R524–R528.

21. Dostanic-Larson I., Van Huysse J. W., Lorenz J. N., Lingrel J. B. 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. P. 15845–15850.

22. Efendiev R., Krmar R. T., Ogimoto G. 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. 1994. № 95. P. 1100–1108.

23. Elkareh J., Kennedy D. J., Yashaswi B. et al. Marinobufagenin stimulates fibroblast collagen production and causes fibrosis in experimental uremic cardiomyopathy // Hypertension. 2007. № 49. P. 215–224.

24. Elkareh J., Periyasamy S. M., Shidyak A. et al. Marinobufagenin induces increases in procollagen expression in a process involving protein kinase C and Fli-1: implications for uremic cardiomyopathy // Am. J. Physiol. Renal. Physiol. 2009. № 296. P. F1219–F1226.

25. Fedorova L. V., Raju V., El-Okdi N. et al. The cardiotonic steroid hormone marinobufagenin induces renal fibrosis: implication of epithelial-to-mesenchymal transition // Am. J. Physiol. Renal. Physiol. 2009. № 296. P. F922–F934.

26. Fedorova O. V., Agalakova N. I., Morrell C. H. et al. ANP differentially modulates marinobufagenin-induced sodium pump inhibition in kidney and aorta // Hypertension. 2006. № 48. P. 1160–1168.

27. Fedorova O. V., Agalakova N. I., Talan M. I. et al. Brain ouabain stimulates peripheral marinobufagenin via angiotensin II signaling in NaCl loaded Dahl-S rats // J. Hypertens. 2005. № 23. P. 1515–1523.

28. Fedorova O. V., Agalakova N. I., Talan M. I. et al. Brain ouabain stimulates peripheral marinobufagenin via angiotensin II signalling in NaCl loaded Dahl-S rats // J. Hypertens. 2005. № 23. P. 1515–1523.

29. Fedorova O. V., Anderson D. E., Lakatta E. G., Bagrov A. Y. 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. P. R352–R358.

30. Fedorova O. V., Bagrov A. Y. Endogenous cardenolide and bufadienolides Na/K-ATPase inhibitors. How they work together in NaCl-sensitive hypertension // Front. Biosci. 2005. № 10. P. 2250–2256.

31. Fedorova O. V., Bagrov A. Y. Inhibition of Na/K ATPase from rat aorta by two endogenous Na/K pump inhibitors, ouabain and marinobufagenin. Evidence of interaction with different alpha-subunit isoforms // Am. J. Hypertens. 1997. № 10. P. 929–935.

32. Fedorova O. V., Doris P. A., Bagrov A. Y. Endogenous marinobufagenin-like factor in acute plasma volume expansion // Clin. Exp. Hypertens. 1998. № 20. P. 581–591.

33. Fedorova O. V., Emelianov I. V., Bagrov K. A. et al. Marinobufagenin – induced vascular fibrosis is a likely target for mineralcorticoid antagonists // J. Hypertens. 2015. № 33. P. 1602–1610.

34. Fedorova O. V., Kolodkin N. I., Agalakova N. I. et al. Marinobufagenin, an endogenous alpha-1 sodium pump ligand, in hypertensive Dahl salt-sensitive rats // Hypertension. 2001. № 37. P. 462–466.

35. Fedorova O. V., Kolodkin N. I., Agalakova N. I. et al. Antibody to marinobufagenin lowers blood pressure in pregnant rats on a high NaCl intak // J. Hypertens. 2005. № 23. P. 835–842.

36. Fedorova O. V., Lakatta E. G., Bagrov A. Y. 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. P. 3009–3014.

37. Fedorova O. V., Simbirtsev A. S., Kolodkin N. I. et al. Monoclonal antibody to an endogenous bufadienolide, marinobufagenin, reverses preeclampsia-induced Na/K-ATPase inhibition in lowers blood pressure in NaCl-sensitive hypertension // J. Hypertens. 2008. № 26. P. 2414–2425.

38. Fedorova O. V., Talan M. I., Agalakova N. I. et al. An endogenous ligand of alpha-1 sodium pump, marinobufagenin, is a novel mediator of sodium chloride dependent hypertension // Circulation. 2002. № 105. P. 1122–1127.

39. Fedorova O. V., Tapilskaya N. I., Bzhelyansky A. M. et al. Interaction of Digibind with endogenous cardiotonic steroids from preeclamptic placentae // J. Hypertens. 2010. № 28. P. 361–366.

40. Fedorova O. V., Tapilskaya N. I., Bzhelyansky A. M. et al. Interaction of Digibind with endogenous cardiotonic steroids from preeclamptic placentae // J. Hypertens. 2010. № 28. P. 361–366.

41. Fedorova O. V., Zernetkina V. Z., Shilova V. Y. et al. Synthesis of an endogenous steroidal Na pump inhibitior marinobufagenin, implicated in human cardiovascular diseases, is initiated by CYP27A1 via bile acid pathway // Circulation.

42. Fedorova O. V., Zhuravin I. A., Agalakova N. I. et al. Intrahippocampal microinjection of an exquisitely low dose of ouabain mimics NaCl loading and stimulates a bufadienolide Na/K-ATPase inhibitor // J. Hypertens. 2007. № 25. P. 1834–1844.

43. Ferrandi M., Molinari I., Barassi P. et al. Organ hypertrophic signaling within caveolae membrane subdomains triggered by ouabain and antagonized by PST 2238 // J. Biol. Chem. 2004. № 279. P. 33306–33314.

44. Ferrari P., Ferrandi M., Tripodi G. et al. PST 2238: a new antihypertensive compound that modulates Na,K-ATPase in genetic hypertension // J. Pharmacol. Exp. Ther. 1999. № 288. P. 1074–1083.

45. 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. P. 784–790.

46. Flier J. S., Edwards M. W., Daly J. W., Myers C. W. Widespread occurrence in frogs and toads of skin compounds interacting with the ouabain site of Na,K-ATPase // Science. 1980. № 208. P. 503–505.

47. Flier J. S., Maratos-Flier E., Pallota J. A., McIsaac D. Endogenous digitalis-like activity in the plasma of the toad Bufo marinus // Nature. 1979. № 279. P. 341–343.

48. Folkow B. Physiological aspects of primary

hypertension // Physiol Rev. 1992. № 62. P. 347–504.

49. Franklin S. S., Gustin W. 4th, Wong N. D. M. N. Hemodynamic patterns of age-related changes in blood pressure. The Framingham Heart Study // Circulation. 1997. № 96. P. 308–315.

50. Fridman A. I., Matveev S. A., Agalakova N. I. et al. Marinobufagenin, an endogenous ligand of α-1 Na/K-ATPase, is a marker of congestive heart failure severity // J. Hypertens. 2002. № 20. P. 1189–1194.

51. Gabor A., Leenen F. H. Mechanisms in the PVN mediating local and central sodium-induced hypertension in Wistar rats // Am. J. Physio. Regul. Integr. Comp. Physiol. 2009. № 296. P. R618–R630.

52. Gates P. E., Tanaka H., Hiatt W. R. Dietary sodium restriction rapidly improves large elastic artery compliance in older adults with systolic hypertension // Hypertension. 2004. № 44. P. 35–41.

53. Gonick H. C., Ding Y., Vaziri N. D. et al. Simultaneous measurement of marinobufagenin, ouabain and hypertension-associated protein in various disease state // Clin. Exp. Hypertens. 1998. № 20. P. 617–627.

54. Goodlin R. C. Antidigoxin antibodies in eclampsia // N. Engl. J. Med. 1988. № 31. P. 1097–1103.

55. Goto A., Yamada K., Ishii M. et al. Immunoreactivity of endogenous digitalislike factors // Biochem. Pharmacol. 1991. № 41. P. 1261–1263.

56. Graves S. W., Brown B., Valdes R. An endogenous digoxin-like substance in patients with renal impairment // Ann. of Int. Med. 1983. № 99. P. 604–608.

57. Graves S. W., Valdes R. Jr., Brown B. A. et al. Endogenous digoxin-immunoreactive substance in human pregnancies // J. Clin. Endocrinol. Metab. 1984. № 58 (4). P. 748–751.

58. Grigorova Y. N., Juhasz O., Zernetkina V. et al. Aortic fibrosis, induced by high salt intake in the absence of hypertensive response, is reduced by a monoclonal antibody to marinobufagenin // Am. J. Hypertens. doi: 10.1093/ajh/hpv155.

59. Gruber K. A., Whitaker J. M., Buckalew V. M. Endogenous digitalis-like substance in plasma of volume-expanded dogs // Nature. 1980. № 287. P. 743–745.

60. Haas M., Askari A., Xie Z. Involvement of Src and epidermal growth factor receptor in the signal-transducing function of Na+/K+-ATPase // J. Biol. Chem. 2000. № 275. P. 27832–27837.

61. Haas M., Wang H., Tian J., Xie Z. Src-mediated inter-receptor cross-talk between the Na+/K+-ATPase and the epidermal growth factor receptor relays the signal from ouabain to mitogen-activated protein kinases // J. Biol. Chem. 2002. № 277. P. 18694–18702.

62. Haddy F. J., Overbeck H. W. The role of humoral agents in volume expanded hypertension // Life Sci. 1976. № 19. P. 935–947.

63. Haller S. T., Kennedy D. J., Shidyak A. et al. Monoclonal antibody against marinobufagenin reverses cardiac fibrosis in rats with chronic renal failure // Am. J. Hypertens. 2012. № 25 (6). P. 690–696.

64. Haller S. T., Kennedy D. J., Shidyak A. et al. Monoclonal antibody against marinobufagenin reverses cardiac fibrosis in rats with chronic renal failure // Am. J. Hypertens. 2012. № 25 (6). P. 690–696.

65. Hamlyn J. M., Blaustein M. P., Bova S. et al. Identification and characterization of a ouabain-like compound from human plasma // Proc. Natl. Acad. Sci USA. 1991. № 88. P. 6259–6563.

66. Hamlyn J. M., Manunta P. Ouabain, digitalis-like factors and hypertension // J. Hypertens. Suppl. 1992. № 10. P. S99–S111.

67. Hamlyn J. M., Ringel R., Schaeffer J. et al. A circulating inhibitor of (Na,K)ATPase associated with essential hypertension // Nature. 1982. № 300. P. 650–652.

68. Hillyard S. D., Lu E., Gonick H. C. Further characterization of the natriuretic factor derived from kidney tissue of volume-expanded rats. Effects on short-circuit current and sodium-potassium-adenosine triphosphatase activity // Circ. Res. 1976. № 38. P. 250–255.

69. Hilton P. J., White R. W., Lord G. A. et al. An inhibitor of the sodium pump obtained from human placenta // Lancet. 1996. № 348. P. 303–305.

70. Hout S. J., Pamnani M. B., Clough D. L. et al. The role of sodium intake, the Na+-K+ pump and a ouabain-like humoral agent in the genesis of reduced renal mass hypertension // Am. J. Nephrol. 1983. № 3. P. 92–99.

71. Huang B. S., Leenen F. H. Both brain angiotensin II and "ouabain" contribute to sympathoexcitation and hypertension in Dahl S rats on high salt intake // Hypertension. 1998. № 32. P. 1028–1033.

72. Huang B. S., Leenen F. H. H. Sympathoexcitatory and pressor responses to increased brain sodium and ouabain are mediated via brain ANGII // Am. J. Physiol. 1996. № 270. P. H275–H280.

73. Huang B. S., Van Vliet B. N., Leenen F. H. 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. P. H1160–H1166.

74. Ishkaraeva-Yakovleva V. V., Fedorova O. V., Solodovnikova N. G. DigiFab interacts with endogenous cardiotonic steroids and reverses preeclampsia-induced Na/K-ATPase inhibition // Reprodactive Science. 2012. № 19 (12). P. 1260–1267.

75. Iwai J., Knudsen K. D., Dahl L. K. et al. Genetic influence on the development of renal hypertension in parabiotic rats. Evidence for a humoral factor // J. Exp. Med. 1969. № 129. P. 507–522.

76. Iyoda I., Takahashi H., Lee L. C. et al. Cardiovascular and sympathetic responses to ouabain injected into the hypothalamus in rats // Cardiovasc. Res. 1986. № 20. P. 294–298.

77. Jablonski K. L., Fedorova O. V., Racine M. L. et al. Dietary sodium restriction and association with urinary marinobufagenin, blood pressure, and aortic stiffness // Clin. J. Am. Soc. Nephrol. 2013. № 8. P. 1952–1959.

78. Javitt N. B. Bile acid synthesis from cholesterol: regulatory and auxilarry pathways // FASEB J. 1994. № 8. P. 1308–1311.

79. Kaess B. M., Rong J., Larson M. G. M. N. Aortic stiffness, blood pressure progression, and incident hypertension // JAMA. 2012. № 308. P. 875–881.

80. Katz A. L. Renal Na-K-ATPase: its role in tubular sodium and potassium transport // Am. J. Physiol. 1982. № 242 (3). P. 207–219.

81. Kennedy D. J., Elkareh J., Shidyak A. et al. Partial nephrectomy as a model for uremic cardiomyopathy in the mouse // Am. J. Physiol. Renal. Physiol. 2008. № 294. P. F450–F454.

82. Kennedy D. J., Vetteth S., Periyasamy S. M. et al. Central role for the cardiotonic steroid marinobufagenin in the pathogenesis of experimental uremic cardiomyopathy // Hypertension. 2006. № 47. P. 488–495.

83. Kennedy D. J., Vetteth S., Periyasamy S. M. et al. Central role for the cardiotonic steroid marinobufagenin in the pathogenesis of experimental uremic cardiomyopathy // Hypertens. 2006. № 47. P. 488–495.

84. Kieval R. S., Butler V. P., Derguini F. et al. Cellular electrophysiologic effects of vertebrate digitalis-like substances // J. Am. Coll. Cardiol. 1988. № 11. P. 637–643.

85. Kojima I., Yoshihara S., Ogata E. Involvement of endogenous digitalis-like substance in genesis of deoxycorticosterone-salt hypertension // Life Sci. 1982. № 30. P. 1775–1781.

86. Kolmakova E. V., Haller S. T., Kennedy D. J. et al. Endogenous cardiotonic steroids in chronic renal failure // Nephrol. Dial. Transplant. 2011. № 26. P. 2912–2919.

87. Kometiani P., Li J., Gnudi L. et al. Multiple signal transduction pathways link Na+/K+-ATPase to growth-related genes in cardiac myocytes. The roles of Ras and mitogen-activated protein kinases // J. Biol. Chem. 1998. № 273. P. 15249–15256.

88. Komiyama Y., Dong X. H., Nishimura N. et al. A novel endogenous digitalis, telocinobufagin, exhibits elevated plasma levels in patients with terminal renal failure // Clin. Biochem. 2005. № 38. P. 36–45.

89. Kubo M., Czuwara-Ladykowska J., Moussa O. et al. Persistent down-regulation of Fli1, a suppressor of collagen transcription, in fibrotic scleroderma skin // Am. J. Pathol. 2003. № 163. P. 571–581.

90. Lakatta E. G., Levy D. Arterial and cardiac aging: Major shareholders in cardiovascular disease enterprises. P. I: Agingarteries: A "set up" for vascular disease // Circulation. 2003. № 107. P. 139–146.

91. Lam G., Johnson D., Robinson C. et al. Procceding of XVI Congress of International Society for the Study of hypertension in pregnancy. Vol. 44. Washington DC, 2008. Antepartum administration of a digoxin immune Fab (Digibind®) improves renal function in patients with severe preeclampsia. P. 60.

92. LaMarca H. L., Morris C. A., Pettit G. R. et al. Marinobufagenin impairs first trimester cytotrophoblast differentiation // Placenta. 2006. № 27. P. 984–988.

93. Lee W. R., Ishikawa T., Umetani M. The interaction between metabolism, cancer and cardiovascular disease, connected by 27-hydroxycholesterol // Clin. Lipidol. 2014. № 9 (6). P. 617–624.

94. Leenen F. H. H., Harmsen E., Yu H. Dietary sodium and central vs. peripheral ouabain-like activity in Dahl salt-sensitive vs. salt-resistant rats // Am. J. Physiol. 1994. № 267. P. H1969–H1920.

95. Leenen F. H. H., Ruzicka M., Huang B. S. The brain and salt-sensitive hypertension // Curr. Hypertens. Rep. 2002. № 4. P. 129–135.

96. Li J., Daly E., Campioli E. et al. De novo synthesis of steroids and oxysterols in adypocytes // J. Biol. Chem. 2014. № 289 (2). P. 747–764.

97. Liang M., Tian J., Liu L. et al. Identification of a pool of non-pumping Na/K-ATPase // J. Biol. Chem. 2007. № 282. P. 10585–10593.

98. Lichtstein D., Gati I., Babila T., Katz U. Effect of salt acclimation on digitalis-like compounds in the toad // Biochim. Biophys. Acta. 1991. № 1073. P. 65–68.

99. Lichtstein D., Gati I., Samuelov S. et al. Identification of digitalis-like compounds in human cataractous lenses // Eur. J. Biochem. 1993. № 216. P. 261–268.

100. Liu J., Kesiry R., Periyasamy S. M. et al. Ouabain induces endocytosis of plasmalemmal Na/K-ATPase in LLC-PK1 cells by a clathrin-dependent mechanism // Kidney Int. 2004. № 66. P. 227–241.

101. Liu J., Liang M., Liu L. et al. Ouabain-induced endocytosis of the plasmalemmal Na/K-ATPase in LLC-PK1 cells requires caveolin-1 // Kidney Int. 2005. № 67. P. 1844–1854.

102. Liu J., Periyasamy S. M., Gunning W. et al. Effects of cardiac glycosides on sodium pump expression and function in LLC-PK1 and MDCK cells // Kidney Int. 2002. № 62. P. 2118–21125.

103. Liu J., Shapiro J. I. Regulation of sodium pump endocytosis by cardiotonic steroids: Molecular mechanisms and physiological implications // Pathophysiology. 2007. № 14. P. 171–181.

104. Liu J., Tian J., Haas M. et al. Ouabain interaction with cardiac Na+/K+-ATPase initiates signal cascades independent of changes in intracellular Na+ and Ca2+ concentrations // J. Biol. Chem. 2000. № 275. P. 27838–27844.

105. Liu L., Mohammadi K., Aynafshar B. et al. Role of caveolae in signal-transducing function of cardiac Na+/K+-ATPase // Am. J. Physiol. Cell. Physiol. 2003. № 284. P. C1550–C1560.

106. London G. M. Cardiovascular Disease in Chronic Renal Failure: Pathophysiologic Aspects // Semin Dial. 2003. № 16. P. 85–94.

107. Lopatin D. A., Ailamazian E. K., Dmitrieva R. I. et al. Circulating bufodienolide and cardenolide sodium pump inhibitors in preeclampsia // J. Hypertens. 1999. № 17. P. 1179–1187.

108. Mall G., Huther W., Schneider J. et al. Diffuse intermyocardiocytic fibrosis in uraemic patients // Nephrol. Dial. Transplant. 1990. № 5 (1). P. 39–44.

109. Manunta P., Maillard M., Tantardini C. et al. Relationships among endogenous ouabain, alpha-adducin polymorphisms and renal sodium handling in primary hypertension // J. Hypertens. 2008. № 26. P. 914–920.

110. Manunta P., Messaggio E., Ballabeni C. et al. Salt Sensitivity Study Group of the Italian Society of Hypertension, Plasma ouabain-like factor during acute and chronic changes in sodium balance in essential hypertension // Hypertension. 2001. № 38. P. 198–203.

111. Mohammadi K., Kometiani P., Xie Z., Askari A. Role of protein kinase C in the signal pathways that link Na+/K+-ATPase to ERK1/2 // J. Biol. Chem. 2001. № 276. P. 42050–42056.

112. Murrell J. R., Randall J. D., Rosoff J. et al. Endogenous ouabain: upregulation of steroidogenic genes in hypertensive hypothalamus but not adrenal // Circulation. 2005. № 112(9). P. 1301–1318.

113. Najjar S. S., Scuteri A., Shetty V. M. N. Pulse wave velocity is an independent predictor of the longitudinal increase in systolic blood pressure and of incident hypertension in the Baltimore Longitudinal Study of Aging // J. Am. Coll. Cardiol. 2008. № 51. P. 1377–1383.

114. Naruse K., Naruse M., Tanabe A. et al. Does plasma immunoreactive ouabain originate from the adrenal gland? // Hypertension. 1994. № 20. P. 617–627.

115. Nelson E. R., Wardell S. E., Jasper J. S. et al. 27-Hydroxycholesterol links hypercholesterolemia and breast cancer pathophysiology // Science. 2013. № 342. P. 1094–1098.

116. Nikitina E. R., Mikhailov A. V., Nikandrova E. S. et al. In preeclampsia emdogenous cartdiotonic steroids induces vascular fibrosis and impair relaxation of umbilical arteries // J. Hypertens. 2011. № 29 (4). P. 769–776.

117. Nikitina E. R., Nikandrova E. S., Frolova E. V. et al. Endogenous digitalis and impairment of vasorelaxation in preeclampsia // Arterial Hypertension (in Russian). 2009. № 15. P. 454–457.

118. Oda M., Kurosawa M., Numazawa S. 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. P. 1107–1117.

119. Oliver W. J., Cohen E. L., Neel J. V. Blood pressure, sodium intake, and sodium related hormones in the Yanomamo Indians, a "No-salt" culture // Circulation. 1975. № 52. P. 146–151.

120. Orlov S. N., Mongin A. A. Salt-sensing mechanisms in

blood pressure regulation and hypertension // Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol. 2007. № 293. P. H2039–H2053.

121. Orosz D. E., Hopfer U. Pathophysiological consequences of changes in the coupling ration of Na,K-ATPase for renal sodium reabsorption and its implications for hypertension // Hypertension. 1996. № 27. P. 219–227.

122. Overbeck H. W., Pamnani M. B., Akera T. et al. Depressed function of a ouabain-sensitive sodium-potassium pump in blood vessels from renal hypertensive dogs // Circ. Res. 1976. № 38(6 Suppl 2). P. 48–52.

123. Overlack A., Ruppert M., Kolloch R. M. N. Divergent hemodynamic and hormonal responses to varying salt intake in normotensive subjects // Hypertension. 1993. № 22. P. 331–338.

124. Oweis S., Wu L., Kiela P. R., Zhao H. et al. Cardiac glycoside downregulates NHE3 activity and expression in LLC-PK1 cells // Am. J. Physiol. Renal Physiol. 2006. № 290. P. F997–F1008.

125. Payne A. H., Hales D. B. Overview of steroidogenic enzymes in the pathway from cholesterol to active steroid hormones // Endocr. Rev. 2004. № 25(6). P. 947–970.

126. Periyasamy S. M., Chen J., Cooney D. et al. Effects of uremic serum on isolated cardiac myocyte calcium cycling and contractile function // Kidney Int. 2001. № 60. P. 2367–2376.

127. Periyasamy S. M., Liu J., Tanta F. et al. Salt loading induces redistribution of the plasmalemmal Na/K-ATPase in proximal tubule cells // Kidney Int. 2005. № 67. P. 1868–1877.

128. Pikuleva I. A. Cytochrome P450s and cholesterol homeostasis // Pharmacol. Ther. 2006. № 112 (3). P. 761–773.

129. Priyadarshi S., Valentine B., Han C. et al. Effect of green tea extract on cardiac hypertrophy following 5/6 nephrectomy in the rat // Kidney Int. 2003. № 63. P. 1785–1790.

130. Puschett J. B., E. Agunanne, Uddin M. N. Marinobufagenin, resibufogenin and preeclampsia // Arterial Hypertension. 2010. № 1802 (12). P. 1246–1253.

131. Schneider R., Wray V., Nimtz M. et al. Bovine adrenals contain, in addition to ouabain, a second inhibitor of the sodium pump // J. Biol. Chem. 1998. № 273. P. 784–792.

132. Seals D. R., Tanaka H., Clevenger C. M. et al. Blood pressure reductions with exercise and sodium restriction in postmenopausal women with elevated systolic pressure: Role of arterial stiffness // J. Am. Coll. Cardiol. 2001. № 38. P. 506–513.

133. Semplicini A., Serena L., Valle R. et al. Ouabain-inhibiting activity of aldosterone antagonists // Steroids. 1995. № 60. P. 110–113.

134. Sich B., Kirch U., Tepel M. et al. Pulse pressure correlates in humans with a proscillaridin-A immunoreactive compound // Hypertension. 1996. № 27. P. 1073–1077.

135. Stella P., Manunta P., Mallamaci F. et al. Endogenous ouabain and cardiomyopathy in dialysis patients // J. Intern. Med. 2008. № 263. P. 274–280.

136. Takahashi H., Iyoda I., Takeda K. et al. Centrally-induced vasopressor responses to ouabain are augmented in spontaneously hypertensive rats // Clin. Exp. Hypertens. 1984. № A6. P. 1499–1515.

137. Takahashi H., Matsusawa M., Ikegaki I. et al. Brain renin-angiotensin system and the hypothalamic, digitalis-like Na,K-ATPase inhibitor in rats // Clin. Exp. Hypertens. 1988. № A10. P. 1285–1287.

138. Tian J., Cai T., Yuan Z. et al. Binding of Src to Na+/K+-ATPase forms a functional signaling complex // Mol. Biol. Cell. 2006. № 17. P. 317–326.

139. Tian J., Liu J., Garlid K. D. et al. Involvement of mitogen-activated protein kinases and reactive oxygen species in the inotropic action of ouabain on cardiac myocytes. A potential role for mitochondrial K(ATP) channels // Mol. Cell. Biochem. 2003. № 242. P. 181–187.

140. Tian J., Shidyak A., Periyasamy S. M. et al. Spironolactone attenuates experimental uremic cardiomyopathy by antagonizing marinobufagenin // Hypertension. 2009. № 54. P. 1313–1320.

141. Torielli L., Tivodar S., Montella R. C. et al. alpha-Adducin mutations increase Na/K pump activity in renal cells by affecting constitutive endocytosis: implications for tubular Na reabsorption // Am. J. Physiol. Renal Physiol. 2008. № 295. P. F478–F487.

142. Trejter M., Hochol A., Tyczewska M. et al. Sex-related gene expression profiles in the adrenal cortex in the mature rat: Microarray analysis with emphasis on genes involved in steroidogenesis // Int. J. Mol. Med. 2015. № 35 (3). P. 702–714.

143. Umetani M., Shaul P. W. 27-hydroxycholesterol: the first identified endogenous SERM // Trend. Endocrinol. Metab. 2011. № 22 (4). P. 130–135.

144. Uno Y., Hosaka S., Yamazaki H. Identification and analysis of CYP7A1, CYP17A1, CYP20A1 and CYP51A1 in Cynomolgus Macaques // J. Vet Med Sci. 2014. № 76(12). P. 1647–1650.

145. Wang H., Haas M., Liang M. et al. Ouabain assembles signaling cascades through the caveolar Na+/K+-ATPase // J. Biol. Chem. 2004. № 279. P. 17250–17529.

146. Wang H., Leenen F. H. Brain sodium channels and central sodium-induced increases in brain ouabain-like compound and blood pressure // J. Hypertens. 2003. № 21. P. 1519–1524.

147. Wang H., Leenen F. H. H. Brain sodium channels and central sodium-induced increases in brain ouabain-like compound and blood pressure // J. Hypertens. 2003. № 21. P. 1519–1524.

148. Wang J. G., Staessen J. A., Messaggio E. et al. Salt, endogenous ouabain and blood pressure interactions in the general population // J. Hypertens. 2003. № 21. P. 1475–1481.

149. Weinberger M. H., Miller J. Z., Luft F. C. M. N. Definitions and characteristics of sodium sensitivity and blood pressure resistance // Hypertension. 1986. № 8. P. II127–II134.

150. Xie Z., Cai T. Na+-K+--ATPase-mediated signal transduction: from protein interaction to cellular function // Mol. Interv. 2003. № 3. P. 157–168.

151. Yoshika M., Komiyama Y., Konishi M. et al. Novel digitalis-like factor, marinobufotoxin, isolated from cultured Y-1 cells, and its hypertensive effect in rats // Hypertension. 2007. № 49. P. 209–214.

152. Zhang J., Lee M. Y., Cavalli M. et al. Sodium pump alpha2 subunits control myogenic tone and blood pressure in mice // J. Physiol. 2005. № 569. P. 243–256.

UDK [616.132.2–089.86–06–005.6]:575.17

Grigorova Yu. N.[1], Bagrov A. Ya.[2,3], Fedorova O. V.[2]

Cardiotonic steroids: main effects, therapeutic applications

[1] Federal Almazov North-West Medical Research Centre
197341, Akkuratova str., 2, St-Petersburg, Russian Federation
[2] National Institute on Aging, National Institutes of Health, Baltimore, MD
[3] Sechenov Institute of Evolutionary Physiology and Biochemistry of Russian Academy of Sciences
194223, Thorez pr., 44,St-Petersburg, Russian Federation
e-mail: bagrova@grc.nia.nih.gov

Abstract

For last few decades 'putative natriuretic hormone' have been considered as very important therapeutic target for developing novel therapies for cardiovascular diseases. The present review discusses the pathophysiological role of endogenous cardiotonic steroids with main focus on marinobufagenin (MBG). Recent studies has established that MBG plays a vital role in regulation of electrolyte homeostasis in humans and rodents. Additionally, it has been reported that elevated MBG plasma levels are associated with number of pathological states such as arterial hypertension, chronic kidney disease, preeclampsia and heart failure. It has been demonstrated that MBG-Na/K-ATPase interaction in kidneys regulates renal sodium excretion inducing natriuresis. Further, it has been reported that MBG-Na/K-ATPase interaction in vascular smooth muscle cells could induce vasoconstriction and cardiovascular fibrosis. Thus these facts have established MBG as a potential therapeutic target. Several therapies such as immunoneutralization of MBG with specific monoclonal antibodies and antagonism with aldosterone antagonists have already been proposed. Further studies providing understanding of pathophysiological implications of MBG and signaling pathways could contribute in establishing new therapies for cardiovascular diseases.

Keywords: *cardiotonic steriods, marinobufagenin, ouabain.*