

УДК 616.153.1:577.152.34+616.154:577.175.85-074

©Г.А.Яровая

КАЛЛИКРЕИН - КИНИНОВАЯ СИСТЕМА: НОВЫЕ ФАКТЫ И КОНЦЕПЦИИ (ОБЗОР)

Г.А.ЯРОВАЯ

Российская медицинская академия последиplomного
образования, кафедра биохимии, 123836, Москва
Баррикадная ул., д.2. Тел.9452415, Эл. почта: yarov@cardpl.msk.ru

Калликреин - кининовая система (ККС) является ключевой протеолитической системой, участвующей в регуляции широкого спектра физиологических функций организма и развитии многих патологических состояний. Этим объясняется большой интерес к структурно - функциональным особенностям и молекулярной биологии отдельных компонентов системы, молекулярным механизмам их взаимодействия и связи с другими системами регуляции. Накопленный в этой области за последние два десятилетия материал проясняет роль ККС в морфогенезе клеток, контроле тонуса гладкой мускулатуры некоторых органов, снижении кровяного давления, увеличения проницаемости сосудистой стенки, в том числе гематоэнцефалического барьера, развитии воспаления, трансформации клеток и других физиологических и патологических процессов.

Существенным прорывом в понимании функций ККС явилось открытие и изучение рецепторов брадикинина, изучение и клонирование генов кининогена и тканевых калликреинов, расшифровка доменной структуры кининогенов, плазменного прекалликреина и некоторых кининаз, расшифровка механизмов контактной системы активации протеолитических систем плазмы крови.

В данном обзоре рассмотрены новые факты, позволяющие не только расширить представления об участии ККС в регуляции ряда физиологических и патологических процессов в организме, но и наметить реальные пути управления этими процессами.

Ключевые слова: калликреин - кининовая система, кининоген, брадикинин, прекалликреин, калликреины, рецепторы брадикинина.

ВВЕДЕНИЕ. Возрастающий интерес к калликреин - кининовой системе (ККС) обусловлен её участием в регуляции многообразных функций организма. Так, хорошо известно о центральной роли ККС в регуляции активности каскадных протеолитических систем плазмы крови: кининогенеза, гемокоагуляции, фибринолиза, комплемента и ренин - ангиотензиновой системы, обеспечивающих процессы адаптации и защиты организма. ККС тканей

контролирует различные стадии морфогенеза клеток некоторых тканей, реакции иммунного ответа, развитие воспаления, шока различной этиологии, тромбозов, геморрагий, злокачественных новообразований и других патологических состояний.

Участие ККС в широком спектре биологических функций организма определяется прежде всего полифункциональностью отдельных компонентов этой системы, их структурно - функциональными особенностями. В последние годы изучена доменная структура плазменных и гранулярных калликреинов, кининогенов, ряда кининаз, рецепторов брадикинина (B_1 и B_2). Это позволило исследовать механизмы белок-белковых взаимодействий при функционировании ККС и ее взаимодействие с другими системами регуляции, расшифровать молекулярные механизмы контактной активации плазменного протеолиза, а также приблизиться к пониманию молекулярных механизмов боли.

Активно развивается изучение генетики и молекулярной биологии тканевой ККС. К наиболее значительным достижениям этого направления следует отнести идентификацию ряда генов калликреинов крысы, изучение их структуры, функций и механизма регуляции, а также идентификацию некоторых полиморфных мутантов в области промотора гена тканевого калликреина человека. В настоящее время разрабатывается технология генной терапии гипертонии человека.

Настоящий обзор посвящен важнейшим достижениям в изучении ККС за последние годы, которые вместе с множеством ранее накопленных экспериментальных и клинических данных, позволили выдвинуть представление о "центральной роли ККС в биологии и медицине", как это было сформулировано на открытии 14^{ого} международного симпозиума, посвященного ККС, "Kinin - 95" [1].

Главные компоненты ККС и их взаимодействие представлены на рис. 1.

За последние 20 лет определилось пять направлений в изучении ККС: 1) кининогены; 2) калликреины; 3) рецепторы кининов и системы передачи сигнала; 4) кининазы; 5) физиология и патофизиология ККС.

Основное внимание будет уделено первым трем направлениям, в исследовании которых в настоящее время достигнут наибольший прогресс, что позволило выдвинуть новые концепции, касающиеся регуляторных функций ККС.

Кининогены являются полифункциональными гликопротеинами, молекулы которых представлены одной полипептидной цепью, синтезируются в основном гепатоцитами и перед секретированием в кровоток подвергаются посттрансляционному гликозилированию [2].

В плазме крови человека присутствуют два кининогена: высокомолекулярный кининоген (ВМК) и низкомолекулярный кининоген (НМК), синтез которых кодируется единым геном, локализованным в хромосоме 3. Ген кининогена содержит 11 экзонов, девять из них образуют три триплетных экзона, каждый из которых, вероятно, происходит из примордиального цистатинового гена [3]. Экзон 10 содержит общую для двух кининогенов кининовую последовательность (экзон 10a) и особую С - концевую последовательность ВМК (экзон 10b), а экзон 11 кодирует уникальную С - концевую последовательность НМК. Альтернатив-

ный сплайсинг первичного транскрипта кининогенового гена образует две различные мРНК, специфичные соответственно для ВМК и НМК [2].

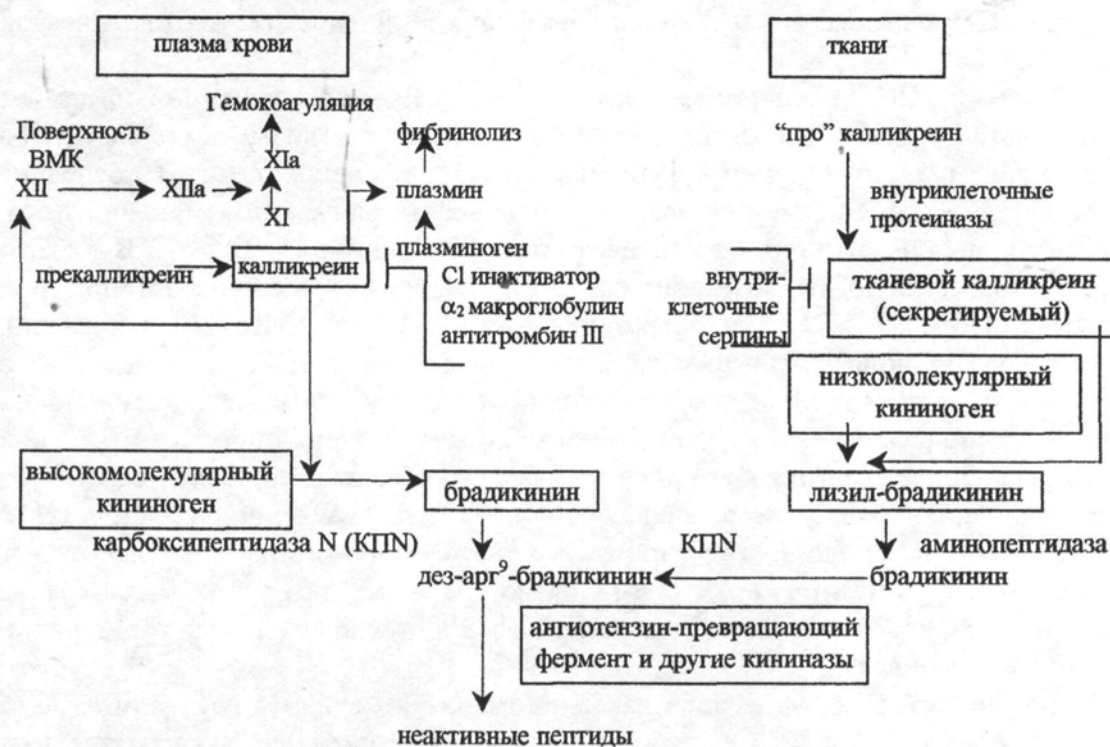


Рисунок 1.

Основные компоненты калликреин - кининовой системы плазмы крови и тканей организма. Стрелки указывают на взаимодействие и превращение компонентов.

Ингибиторы калликреинов заключены в скобках.

1. КИНИНОГЕНЫ

Молекула ВМК включает 626 аминокислотных остатков, имеет молекулярную массу около 120 кДа и pI 4,3; молекула НМК состоит из 409 остатков, её молекулярная масса - 65 кДа и pI 4,7. Концентрация ВМК и НМК в плазме крови человека составляет соответственно 65 - 130 мкг/мл и 109 - 272 мкг/мл [4,5].

На основе структурной и функциональной характеристики кининогенов для этих молекул предложена доменная структура, в соответствии с которой НМК имеет пять доменов ($D_1 - D_5$), а ВМК - шесть доменов ($D_1 - D_6$) [6]. Аминокислотная последовательность и схема доменной структуры ВМК представлена на рис.2. Домены D_1 , D_2 и D_3 (тяжелая цепь 362 аминокислотных остатка) и D_4 (содержит кининовую последовательность) идентичны для обоих кининогенов. Домены D_1 , D_2 и D_3 имеют аминокислотные последовательности, сходные и гомологичные с цистатинами, поэтому кининогены относят к семейству ингибиторов цистеиновых протеиназ [7]. D_1 несет центр, слабосвязывающий Ca^{2+} , функция домена неизвестна [8]. Домены D_2 и D_3 содержат высококонсервативный пентапептид QVVAG, который является функциональным ингибитором цистеиновых протеиназ, таких как папаин, катепсин В и Н (D_2 и D_3) и кальпаин (D_2) [7, 9, 10].

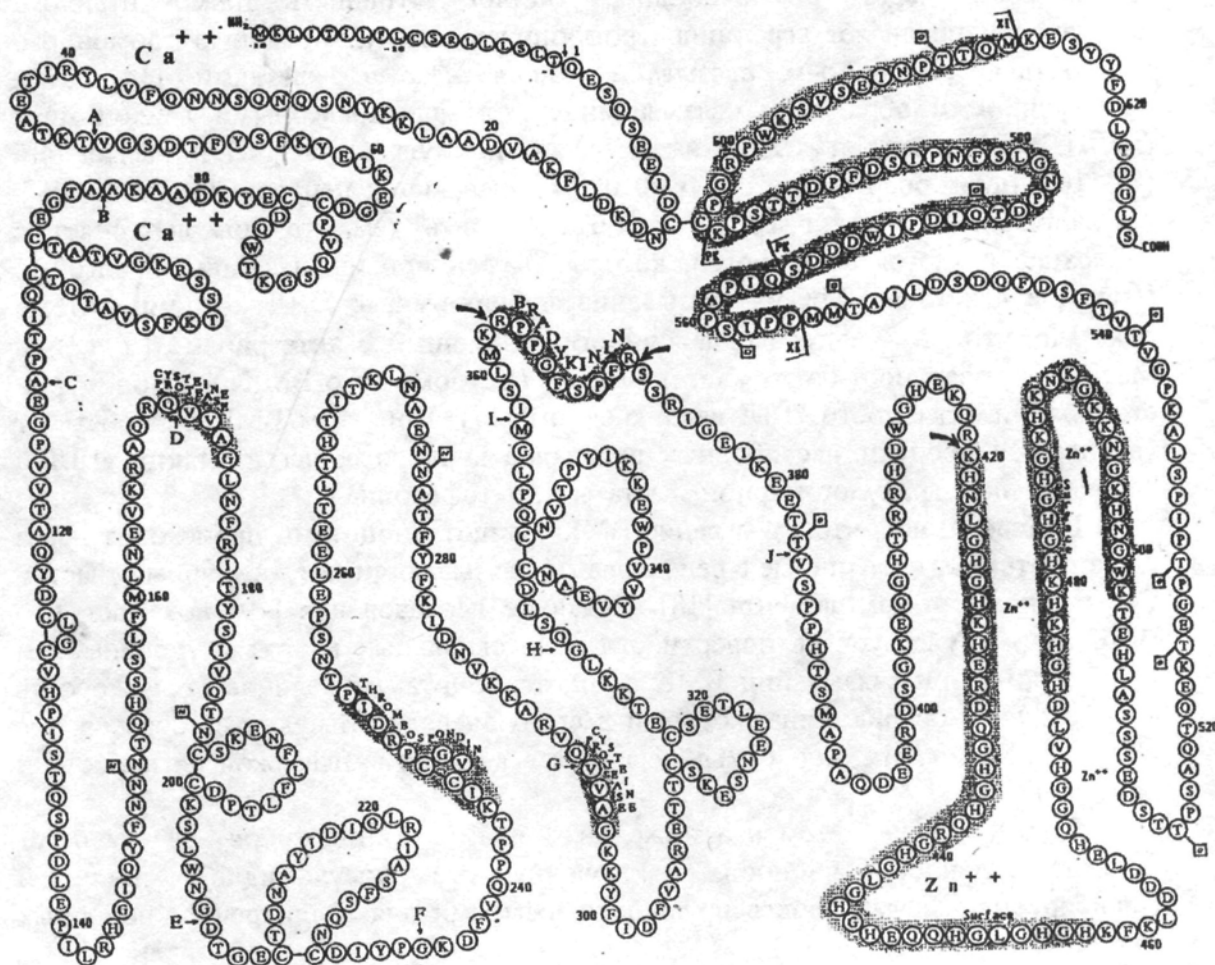


Рисунок 2.

Первичная и доменная структура высокомолекулярного кининогена плазмы крови человека (по [17] с изменениями). Аминокислотная последовательность 1 - 18 представляет лидирующий пептид. Буквы А - J указывают на места интрон - экзональных соединений. Домен 1 (1 - 113) кодирован экзонами 1, 2 и 3; домен 2 (114 - 234) - экзонами 4, 5 и 6; домен 3 (235 - 327) - экзонами 7, 8 и 9; домен 4 (358 - 383) экзоном 10 ВМК; домен 5 (384 - 502) - 5¹ участком экзона 10 ВМК; домен 6 (503 - 626) - 3¹ участком экзона 10 ВМК. Стрелки указывают на связи расщепляемые плазменным калликреином. Заключенные в квадраты О и N показывают расположение углеводных цепей, связанных соответственно с кислородом и азотом. XI и РК обозначают предполагаемые последовательности аминокислот, связывающих соответственно фактор XI и прекалликреин.

Кининогены могут обратимо связываться с тромбоцитами [10,11], нейтрофилами [11] и эндотелиальными клетками [12,13], центрами расположенными в тяжелых цепях (D₃), а ВМК - и легкой цепью (D₅) [13], что было показано главным образом с использованием методов электронной микроскопии, моноклональных антител к отдельным доменам молекул кининогенов, а также мутантных молекул и их фрагментов. Во всех случаях для

связывания кининогенов с клетками необходим Zn^{2+} . При связывании с клетками ВМК контролирует их функции. Так взаимодействие ВМК (D_3) с тромбоцитами, скорее всего через тромбоспондин, угнетает активность тромбоцитарного кальпаина и подавляет агрегацию тромбоцитов, стимулированную тромбином, препятствуя тем самым связыванию последнего с клетками [14]. При специфичном и обратимом связывании с полиморфноядерными лейкоцитами (ПЯЛ) ВМК действует как антиадгезивная молекула [14-16]. При насыщении ($K_d=10,4$ нМ) обнаруживается до 40 000 связывающих центров на клетку [17]. Антиадгезивный эффект ВМК можно объяснить тем, что он вытесняет с поверхности клеток фибриноген, который важен при их агрегации и адгезии. Изучение действия ВМК на связывание фибриногена с ПЯЛ и тромбоцитами показало, что ВМК вытесняет фибриноген связанный с интегринами (α и β_2 и Mac-1) на поверхности этих клеток [14,16,17]. Кроме того ВМК необходим при стимуляции активности ПЯЛ калликреином [17]. При этом ВМК способствует увеличению продукции свободных радикалов кислорода, дегрануляции ПЯЛ и освобождению гранулоцитарной эластазы и лактоферрина.

Предполагают, что связывание ВМК с эндотелиоцитами происходит через гликопротеины, идентичные с рецепторами, связывающими глобулярные участки C1q компонента комплемента [18]. Недавние исследования [19] показали, что ВМК взаимодействует на поверхности эндотелиальных клеток с урокиназным рецептором. При связывании ВМК с эндотелиоцитами увеличивается скорость освобождения брадикинина, который в свою очередь стимулирует образование NO и простациклина, тем самым участвуя в антитромботической активности и вазодилатации.

Последующий домен тяжелой цепи кининогенов D_4 несет последовательность кининов, заключенную в дисульфидной петле и фланкируемую двумя процессирующими центрами для калликреин - подобных ферментов.

Расположенная в С - концевой области от D_4 легкая цепь ВМК (D_5 и D_6 , 255 аминокислотных остатка), взаимодействуя с гидрофильной и анионной поверхностью, проявляет прокоагулянтную активность. Связывание с поверхностью осуществляется расположенным в D_5 участком, обогащенным гистидином, лизином и глицином [20-22]; при этом ВМК принимает участие в формировании контактной фазы активации плазменных протеолитических систем, как неэнзиматический кофактор.

Терминальный домен ВМК D_6 имеет центры для связывания прекалликреина и фактора XI гемокоагуляции.

Легкая цепь НМК D_5 (37 аминокислотных остатка) отличается от легкой цепи ВМК, её функции не известны.

Таким образом особенности доменной структуры ВМК и НМК определяют роль этих белков в регуляции функций многих белков плазмы крови и различных клеток. Так, ВМК участвует в активации контактной фазы плазменного протеолиза, контролирует адгезию и активность тромбоцитов, ПЯЛ, эндотелиоцитов. ВМК и НМК подавляют активность цистеиновых протеиназ, препятствуя их деградирующему действию на плазменные белки при повреждении различных тканей. Оба кининогена участвуют в регуляции артериального давления, модулируют воспалительные и антитромботические

реакции, создают важную регуляторную систему во взаимодействии плазменных белков с клетками крови и клетками сосудистой стенки.

2. КАЛЛИКРЕИНЫ

Освобождение кининов из кининогенов происходит под действием трипсиноподобных сериновых протеиназ - калликреинов, локализованных в плазме крови (плазменный калликреин) и тканях некоторых органов, в частности в поджелудочной и слюнной железах и их секретах, стенке кишечника, почках и моче, половых и потовых железах (тканевые калликреины). Плазменные калликреины - щелочные белки с pI около 8,6 и молекулярной массой примерно в 90 кДа; тканевые калликреины - кислые гликопротеины (pI 3,5 - 4,5) с молекулярной массой от 24 до 40 кДа [23,24].

Последние годы ознаменовались серьезными достижениями в расшифровке структуры, молекулярной биологии и изучении роли калликреинов в регуляции кровяного давления, развитии гипертензии, онкологических заболеваний и многих других физиологических и патогенетических процессов.

Наиболее яркими открытиями является расшифровка молекулярного механизма контактной активации плазменного прекалликреина, выявление полифункциональности калликреинов, клонирование генов тканевых калликреинов и разработка подходов к генотерапии гипертонической болезни.

2.1. Прекалликреин и калликреин плазмы крови.

Прекалликреин - предшественник калликреина плазмы крови является гликопротеином, представленным одной пептидной цепью, состоящей из 619 аминокислотных остатков. Концентрация прекалликреина в плазме крови составляет 295 - 580 нМ (35 - 50 мкг/мл) [25, 26]. Синтезируется прекалликреин в гепатоцитах. Ген, кодирующий прекалликреин, состоит из 15 экзонов и 14 интронов, локализованных в дистальной части хромосомы 4 [27].

Модель первичной и доменной структуры плазменного прекалликреина показана на рис.3.

Прекалликреин активируется путем расщепления единственной связи Арг - 371:Иле - 372, катализируемого активными формами фактора XIIIа свертывания крови (α XIIIa и β XIIIa) [27], с образованием легкой и тяжелой цепей, связанных одной дисульфидной связью [28]. Легкая цепь содержит каталитический домен, типичный для сериновых протеиназ. Тяжелая цепь состоит из 4-х повторяющихся доменов, в значительной мере гомологичных доменам фактора XI гемокоагуляции. Тяжелая цепь имеет участки связывания ВМК и фактора XII, а так же центр, взаимодействующий с нейтрофилами. Используя конкурентное связывание усеченных пептидов, Colman et. al. [29] показали, что на прекалликреине два отдельных участка на доменах A_1 и A_4 связываются с D_6 ВМК. Изучена аминокислотная последовательность, а так же вторичная структура участков связывания на прекалликреине и ВМК и их взаимодействие. Исследования были выполнены с использованием кругового дихроизма и инфракрасной и флуоресцентной спектроскопии, калиброванных по множеству пептидов и белков известной вторичной структуры и специфических длин волн, определяющих известные вторичные структуры. Найдено, что ВМК и прекалликреин (в соотношении 1:1) образуют комплекс, при этом последовательность ВМК из 31 аминокислотного остатка домена D_6 связывается с доменом A_1 прекалликреина N-концевой частью, а С-концевая область этого

участка ВМК взаимодействует с доменом A₄ прекалликреина. Зоны связывания на ВМК и прекалликреине видны на рис.2 и 3 (затемненные участки).

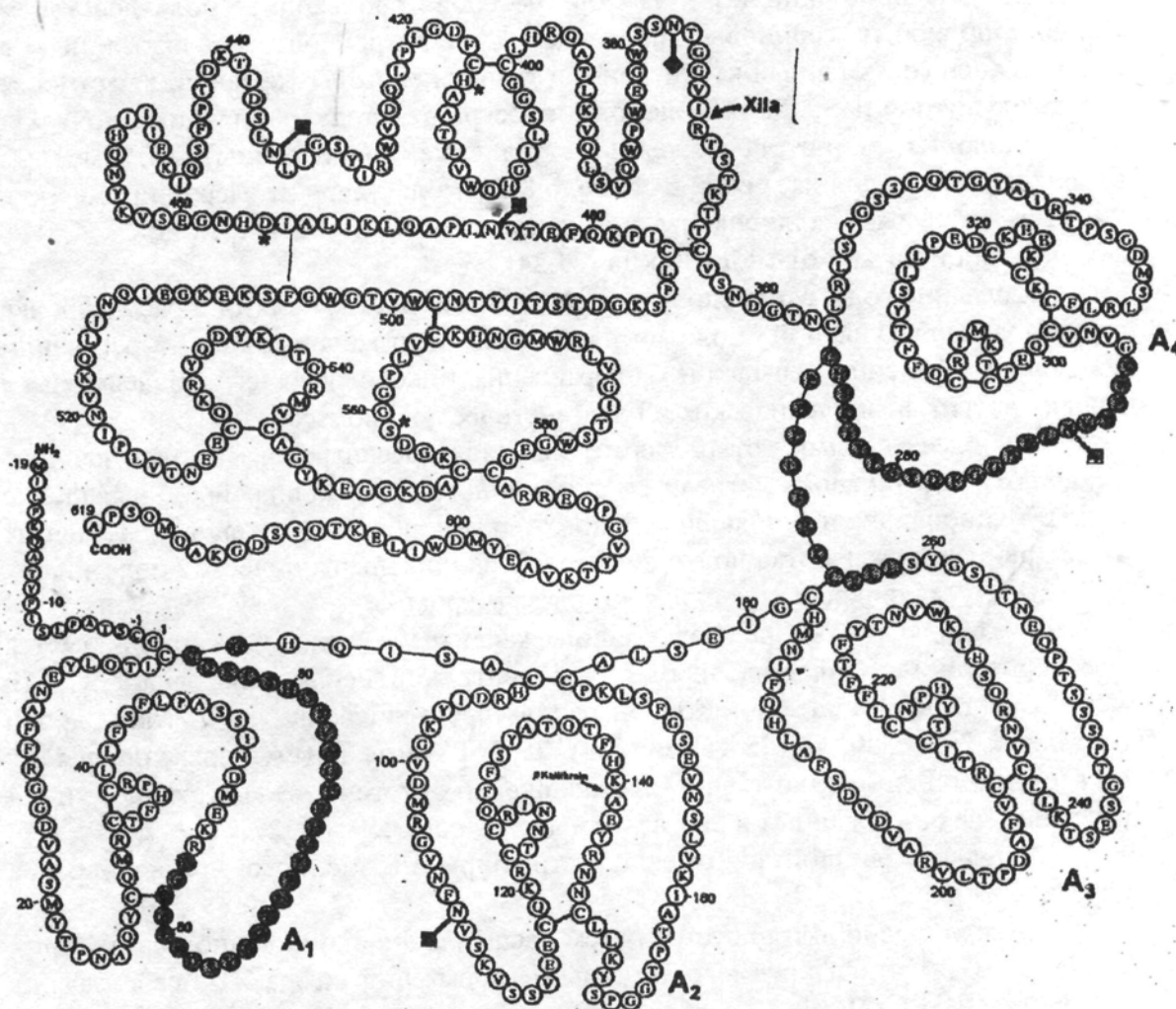


Рисунок 3.

Первичная и доменная структура прекалликреина плазмы крови человека (по [17] с изменениями). Четыре “яблоковидных” домена обозначены как A₁, A₂, A₃ и A₄. Стрелка указывает на связь, расщепляемую активной формой фактора XII гемокоагуляции (XIIa) при активации прекалликреина. Звездочками отмечена каталитическая триада, характерная для сериновых протеиназ (Гис - 415, Асп - 464 и Сер - 559). Остатки аспарагинов (108, 289, 377, 434 и 475), отмеченные звездочками, связаны с углеводными цепями. Затемненные участки в доменах A₁ и A₄ - места связывания ВМК.

Образовавшийся после активации прекалликреина калликреин обладает широким спектром регулирующих функций. Он катализирует гидролиз двух пептидных связей в ВМК, указанных на рис.4, при этом освобождается брадикинин, который в свою очередь контролирует множество физиологических и патогенетических процессов.

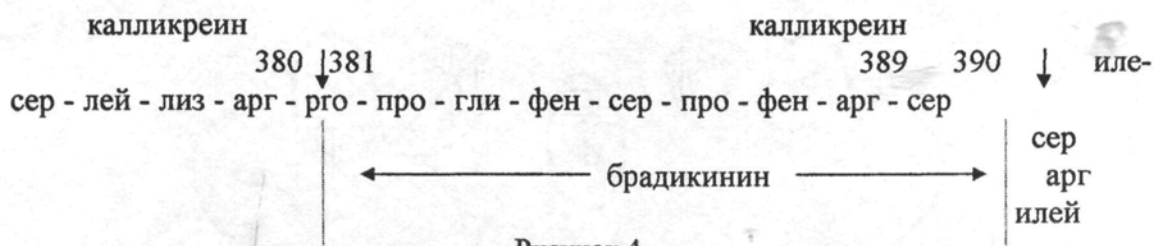


Рисунок 4.

Расщепление ВМК плазменным калликреином с освобождением брадикинина.

2.2. Контактная система активации прекалликреина.

В настоящее время детально расшифрован молекулярный механизм активации плазменного прекалликреина в так называемой “контактной системе активации”, которая вызывает сложную серию реакций, запускающих протеолитические системы плазмы крови, ответственные за процессы адаптации и защиты, такие как гемокоагуляция, фибринолиз, комплемент, калликреин - кининовая и ренин - ангиотензиновая. В контактной системе участвует четыре белка: прекалликреин (ПК), факторы XII и XI гемокоагуляции и ВМК. Механизм взаимодействия этих белков изучен в различных условиях: на чужеродной активирующей анионной поверхности, на анионной поверхности поврежденного эндотелия, на коллагене, кристаллах уратов и других биологических структурах. Схематическая модель контактной системы активации протеиназ представлена на рис.5. На поверхности сорбируются циркулирующие в кровотоке биомолекулярные комплексы ВМК и ПК, ВМК и фактора XI, а также отдельно XII фактор гемокоагуляции [29]. Сорбция ПК и фактора XI осуществляется через ВМК, который связывается с анионной поверхностью катионным участком расположенным в D₅ (рис.3) и является своеобразным якорем для комплексированных с ним зимогенов; XII фактор свертывания имеет центры связывания в N - концевой области молекулы [17,21,22,24,29,30]. В результате на активирующей поверхности формируется ансамбль из 4-х белков с взаимной ориентацией молекул и их локальной концентрацией, обеспечивающих высокую скорость процесса активации зимогенов [30,31]. Изучены количественные характеристики белок - белкового взаимодействия участников контактной активации, и аминокислотные последовательности, обеспечивающие связывание ВМК и ПК (рис.2 и 3), ВМК и фактора XI (рис.2). Молекула фактора XI представляет собой зеркальный димер очень сходных по структуре с прекалликреином субъединиц [32]. Из рисунков 2 и 3 видно, что центры связывания находятся в легкой цепи ВМК и тяжелой цепи ПК. Показано, что взаимодействие между этими цепями не зависит от дополнительной белковой структуры молекул ВМК и ПК (или К), т.е. возникает специфическое неэнзиматическое связывание указанных центров этих белков [29,32-34]. Однако, обе цепи калликреина необходимы для полной активации фактора XII и расщепления ВМК; при гидролизе лишь одной связи в тяжелой цепи калликреина скорости обеих реакций резко снижаются [22, 28, 34, 35].

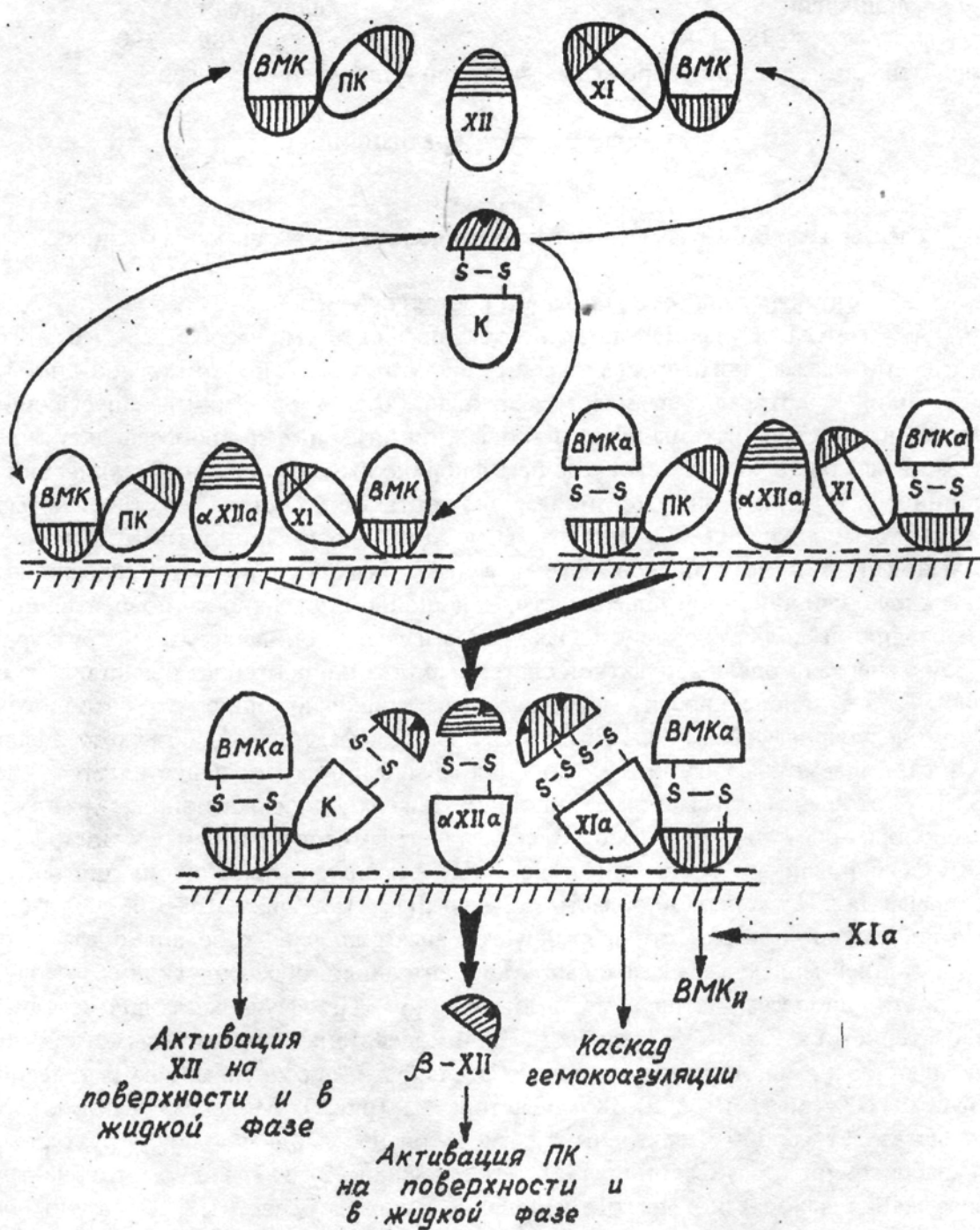


Рисунок 5.

Контактная система активации прекалликреина, факторов XII и XI свертывания крови. Заштрихованные части представленных в схеме белков соответствуют легким цепям молекул; в активной форме белков эти цепи связаны - S - S - связями с тяжелыми цепями. Темные треугольники отмечают положение активных центров ферментов. ВМКa - декиннированная молекула ВМК, обладающая высокой прокоагулянтной активностью. ВМКи - инактивированная под действием XIa молекула ВМК, теряющая способность связываться с поверхностью.

Многочисленные исследования контактной фазы активации ПК, XII и XI факторов гемокоагуляции позволили расшифровать последовательность событий в этом процессе и постулировать его биологическое значение. Есть основания полагать, что фактор XII (зимоген) при адсорбции на поверхности в присутствии ВМК подвергается активации, связанной со ступенчатыми конформационными изменениями, приводящими к экспонированию активного центра в зимогене и формированию активной формы фактора XIIa [36,37].

Небольшое количество фактора XIIa активируют плазменный ПК в калликреин и фактор XI в фактор XIa. Калликреин путем расщепления ВМК освобождает брадикинин и образует активный кофактор ВМК(a), при этом возрастает скорость активации зимогенов контактной системы [36,38]. Калликреин, являясь наиболее эффективным активатором фактора XII, осуществляет протеолитическую активацию последнего в две активные формы: α XIIa и β XIIa. α XIIa состоит из двух цепей, связанных дисульфидной связью, и образуется путем гидролиза одной пептидной связи (arg^{353} и val^{354}), в предшественнике без изменения его молекулярной массы [39]. β XIIa формируется в результате гидролиза еще одной пептидной связи (arg^{334} - asp^{335}), при этом отщепляется легкая цепь фермента, несущая активный центр (с небольшим фрагментом тяжелой цепи) в результате чего из молекулы предшественника в 80 кДа образуется молекула β XIIa с молекулярной массой 30 кДа [40,41]. β XIIa является наиболее эффективным активатором прекалликреина, а α XIIa - фактора XI [41]. Известно также, что связанные с поверхностью калликреин и факторы XIa и α XIIa менее доступны действию ингибиторов [36,38], поэтому реципрокный активирующий механизм является решающим в системе контактной активации. Взаимоактивация ПК и фактора XII приводит к ускорению и распространению процесса их активации. Фактор XIa может прерывать каскад контактной системы активации зимогенов путем гидролиза молекулы ВМК в зоне домена, связывающегося с поверхностью [42], при этом ВМК лишается своей кофакторной функции.

Наиболее трудно объяснимым в системе контактной активации является тот факт, что фактор XIIa, фермент первого этапа каскада активации зимогенов, ответственен за активацию собственного активатора. Существует несколько версий для объяснения этого парадокса, которые сводятся главным образом к стремлению понять каким образом инициируется процесс взаимоактивации факторов XII и ПК. Основываясь на наблюдениях [40,41], можно предположить автоактивацию фактора XII в присутствии анионной поверхности следовыми количествами фактора XIIa всегда присутствующими в крови. Можно также полагать, опираясь на теоретические соображения, что конформационные изменения при связывании с поверхностью нативной молекулы фактора XII приводят к проявлению слабой каталитической активности зимогена, как это известно для трипсиногена [43]. Такие конформационные изменения могут так же увеличивать чувствительность фактора XII к протеолизу калликреином или фактором XIIa [41,43]. В подтверждение этой теории было продемонстрировано индуцирование активации фактора XII в очищенной системе под действием моноклональных антител, связывающихся с зимогеном в районе тяжелой цепи молекулы [43,44]. Не исключена возможность активации фактора XII под

действием небольших количеств калликреина или других содержащихся в плазме и клетках крови неизвестных протеиназ, активирующих фактор XII или ПК.

Таким образом, увеличение относительной доступности субстратов, связанных с поверхностью в оптимально сориентированном микроокружении, а также оптимальная локальная концентрация всех участников контактной системы обеспечивают высокую скорость активации зимогенов и изменяют баланс между активацией протеиназ и их ингибированием в пользу активации.

В настоящее время контактная система активации (КСА) рассматривается как триггерный механизм, запускающий активацию всех пяти протеолитических систем плазмы крови: свертывание, фибринолиз, комплемент, а так же калликреин-кининовую и ренин-ангиотензиновую, кооперативное действие которых обеспечивает процессы адаптации и защиты организма.

Существенно пересматривается роль контактной системы в регуляции гемостаза. Если ранее эта система рассматривалась в основном как начальный этап внутреннего пути гемокоагулирующего каскада, то сейчас стало ясно, что это система в большей степени активирует фибринолиз. Калликреин, и в меньшей степени фактор XIIa и фактор XIa, непосредственно активирует плазминоген, хотя и менее эффективно, чем урокиназа [43]. Однако, плазменный калликреин уже охарактеризован как кинетически эффективный активатор проурокиназы *in vitro* [45]. Недавние исследования показали, что активация проурокиназы может в основном происходить на поверхности тромбоцитов и эндотелиальных клеток [46-48]. Наболее эффективно активация проурокиназы происходит при связывании калликреина через ВМК с рецептором урокиназы [19]. Кроме этого свидетельством того, что контактная система является в основном системой фибринолиза, говорит высокая степень гомологии в структуре фактора XII и тканевых активаторов плазминогена [41].

Обширные экспериментальные и клинические исследования показали, что контактная активация каскадных систем плазмы крови необходима для инициирования, усиления и распространения защитных реакций, которые обеспечиваются данными системами и другими системами с ними взаимодействующими. Ферменты контактной системы активируют первый компонент комплемента (C1), фактор VII гемокоагуляции, проренин и плазминоген, а также стимулируют активацию нейтрофилов либо непосредственно, либо через освобождение брадикинина. Известно, что кинины играют главную роль в развитии воспаления, вызывая все основные признаки и симптомы воспаления при введении кининов в кровь или кожу человека [49]. Особено важно свойство кининов освобождать цитокины такие как интерлейкин - 1, фактор некроза опухоли и многие другие вторично генерируемые медиаторы, из которых, NO, простагландины и лейкотриены, образуются наиболее часто в результате активации фосфолипазы A₂ кининами [24].

Таким образом, одной из важнейших функций контактной системы является образование калликреина, полифункциональной протеиназы, контролирующей множество различных биологических процессов. В частности молекулярные превращения в контактной системе оказывают влияние на ряд важнейших биохимических систем в плазме, клетках крови и эндотелии и могут играть решающую роль в воспалении [24].

В последние годы выдвинута новая концепция активации ККС на поверхности эндотелиальных клеток [88,89]. В результате изучения комплекса компонентов ВМК-ПК с белками мембраны эндотелиальных клеток было показано, что в отличие от искусственной поверхности, активация ПК не зависит от присутствия фактора XII или его активных форм. Изучение ингибиторного спектра и субстратной специфичности, связанной с поверхностью эндотелия протеиназы, присутствие которой необходимо для активации ПК, позволило заключить, что эта протеиназа является Zn^{2+} -зависимой цистеиновой протеиназой. Активация фактора XII происходит вторично после активации ПК. Модель, демонстрирующая основные события активации ККС на эндотелиальной клетке, представлена на рис. 6. Благоприятные условия активации ККС создаются при образовании полибелкового ансамбля на поверхности эндотелиальной клетки, в состав которого входят кроме ВМК и ПК, рецептор активатора плазминогена урокиназного типа (UPAR), рецептор q-субъединицы первого компонента комплемента (gC1qR), фактор XII и цитокератин 1. В этом комплексе ПК активируется под действием мембранно-связанной цистеиновой протеиназы (МР) с образованием К, который в свою очередь активирует фактор XII. Калликреин расщепляет ВМК с образованием брадикинина (БК) и комплекс декининированного ВМК с К "снимается" с поверхности эндотелиоцитов. Данная новая гипотеза активации ККС позволяет предположить, что ККС участвует в регуляции биологических функций сосудистой стенки.

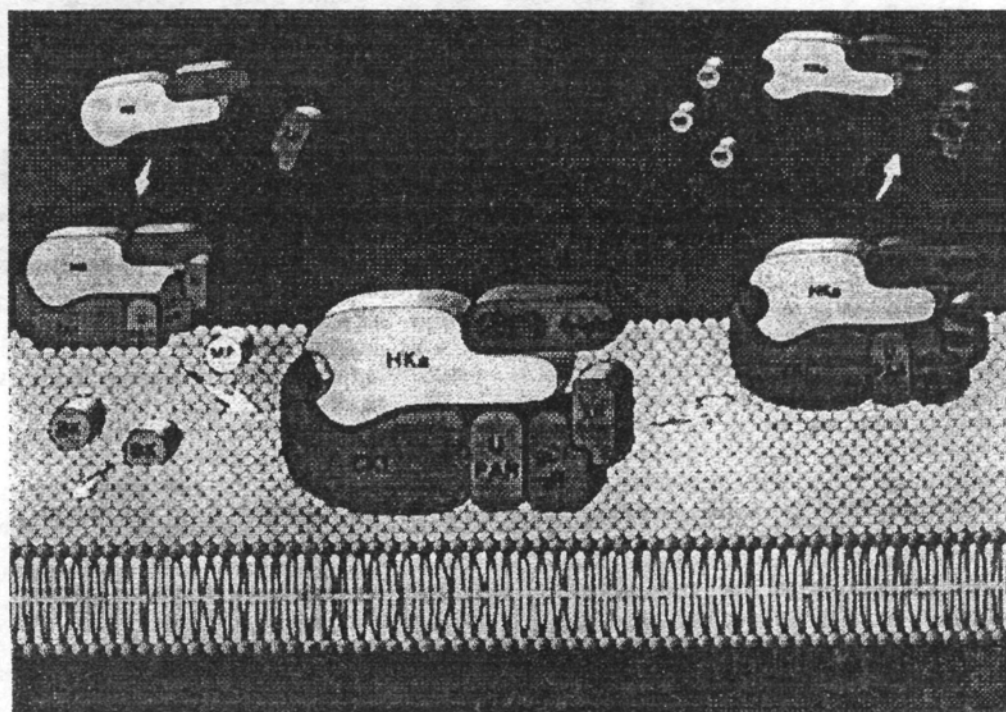


Рисунок 6.
Модель активации ККС на эндотелиальной клетке (по [88]).
Объяснения в тексте.

Кроме кининогеназной функции установлена центральная роль калликреина в регуляции активности других протеолитических систем плазмы крови. Как уже

было отмечено, калликреин плазмы крови активирует фактор XII гемокоагуляции, плазминоген, проурокиназу, первый компонент классического пути и фактор В альтернативного пути активации комплемента, проренин [35,44]. Известно также, что калликреин стимулирует активацию ПЯЛ, освобождение гранулоцитарной эластазы и активацию латентной коллагеназы [50] и осуществляет фрагментирование апобелков липопротеинов низкой плотности, которые при этом теряют способность связываться с соответствующими рецепторами, что усиливает атерогенность этих липопротеинов [51].

Все эти свойства плазменного калликреина обеспечивают участие фермента в развитии важнейших процессов защиты, таких как гемокоагуляция, фибринолиз, лизис клеток, регуляции артериального давления и др. При определенных условиях эти же свойства калликреина определяют развитие многих патологических процессов. Так, многочисленные экспериментальные и клинические исследования свидетельствуют об участии калликреинов в развитии острого и хронического воспаления, шока различной этиологии, диабета, аллергии, тромбо-геморрагических нарушений, в том числе дессиминированного внутрисосудистого свертывания крови, онкологических заболеваний и других патологических состояний организма [24,26,36,37,49,51].

Патогенетические функции калликреина плазмы крови наиболее ярко проявляются при недостаточности его ингибиторов. В плазме крови активность калликреина контролирует главным образом инактиватор первого компонента комплемента (ИС1), α_2 - макроглобулин и в меньшей степени антитромбин III и инактиватор протеина С [52,53].

Просматриваются сложные неоднозначные взаимодействия компонентов контактной фазы с протеиназами клеток крови при развитии воспаления. В частности в наших исследованиях, выполненных на кафедре биохимии РМАПО, было показано, что в зависимости от стадии активации ПЯЛ эти клетки могут активировать или инактивировать ферменты контактной системы [54,55]. Используя очищенные препараты факторов XII, XIIa, прекалликреина, калликреина, выделенных из плазмы крови, удалось установить, что на начальной стадии активирования ПЯЛ могут освобождать сериновую протеиназу, которая после активации калликреином оказывает дозозависимое активирующее действие на фактор XII. Дегрануляция этих клеток сопровождается освобождением из азурофильных гранул лизосомных протеиназ, в том числе эластазы и катепсина G, очищенные препараты которых инактивируют препараты калликреина, фактора XIIa и их зимогенов [55]. Инактивирующим эффектом на зимогены обладает также химаза из тучных клеток [54,55]. В обобщенном виде наши данные отражающие возможные механизмы взаимодействия ключевых протеиназ контактной системы и протеиназ ПЯЛ приведены на рис. 7.

Выдвинутая нами гипотеза о характере указанного взаимодействия подтверждается клиническими наблюдениями [55-58,90], свидетельствующими об увеличении активации прекалликреина в прямой зависимости от тяжести воспалительного процесса, а затем резком снижении активности калликреина и уровня его предшественника, при неуклонном возрастании активности эластазы в терминальной стадии патологического процесса с неблагоприятным исходом [51-57].

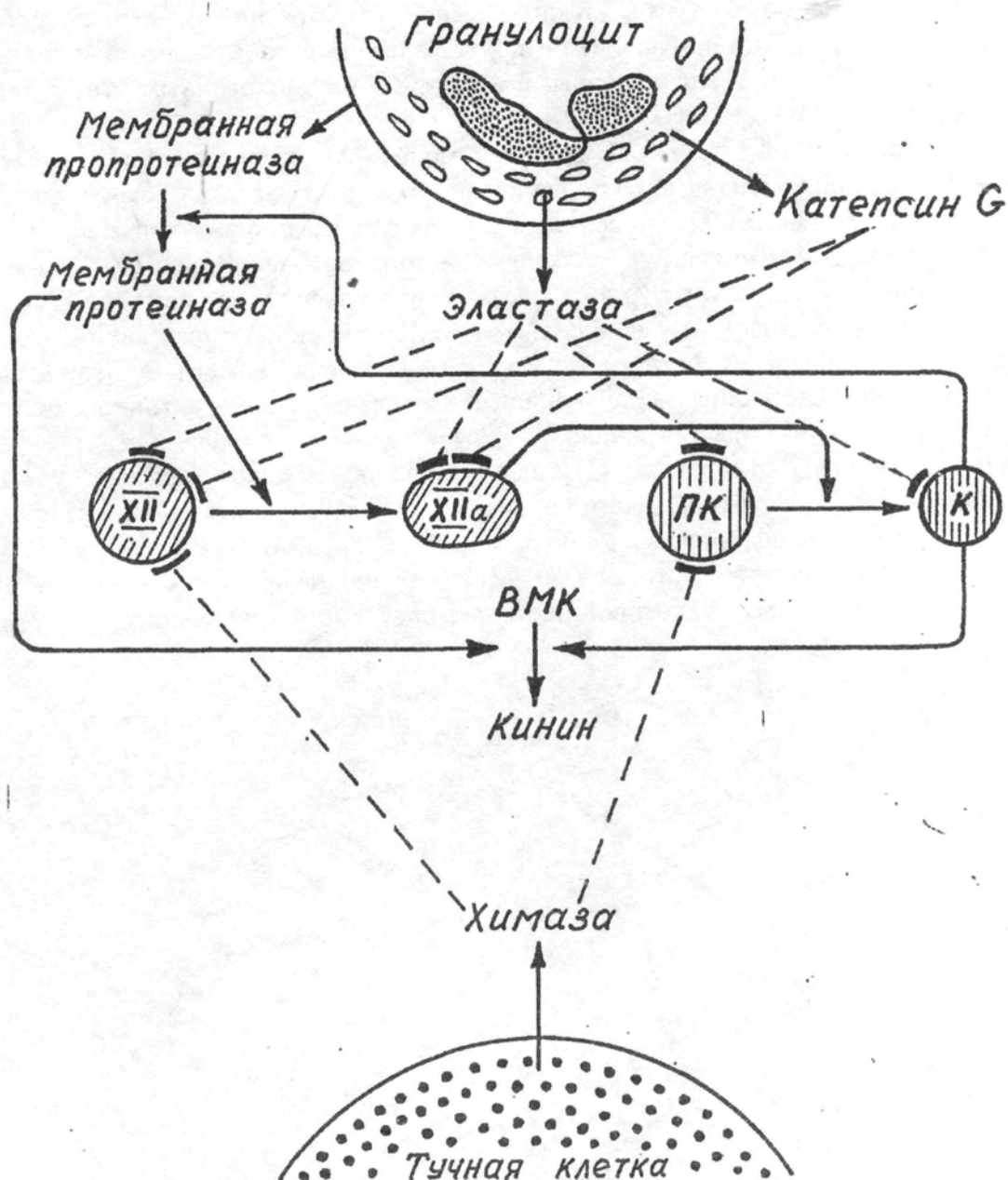


Рисунок 7.

Взаимодействие ключевых протеиназ протеолитических систем плазмы крови и некоторых протеиназ гранулоцитов и тучных клеток. Стрелки обозначают активацию и превращение, прерывистые линии - инактивацию.

2.3. Тканевые калликреины.

Тканевые калликреины широко распространены в организме млекопитающих и встречаются главным образом в тканях с экзокринной функцией и их секретах, а также в эндотелии, миокардиоцитах, в центральной нервной системе и периферических нервах. В последние годы появилось множество работ, обобщающих многочисленные исследования по структурным

функциям и молекулярной биологии различных тканевых калликреинов [23,59,60]. Несмотря на отличия по субстратной специфичности, гидролитическому потенциалу, тканевой локализации, гормональной и ионной регуляции различные калликреины имеют много гомологичных структурных элементов.

На рис.8 представлена обобщенная модель пространственной структуры тканевых калликреинов на основе сравнительного анализа структуры 10 различных тканевых калликреинов. Нумерация аминокислотных остатков соответствует химотрипсину с классической триадой (гис-57, асп-102, сер-195). По данным рентгеноструктурного анализа и кругового дихроизма наиболее консервативные участки располагаются на внутренних участках молекул, особенно в области субстрат-связывающего кармана. Заметные отличия от трипсина и химотрипсина найдены в петле, окружающей щель активного центра, что и определяет более ограниченную субстратную специфичность тканевых калликреинов в отличие от трипсина. Наиболее вариабельные участки расположены в наружной части молекул, что обуславливает их различную субстратную специфичность. В области 95 - 97 аминокислотных остатков калликреины имеют вставку из 10 аминокислот, так называемую "калликреиновую петлю", которой нет в других сериновых протеиназах.

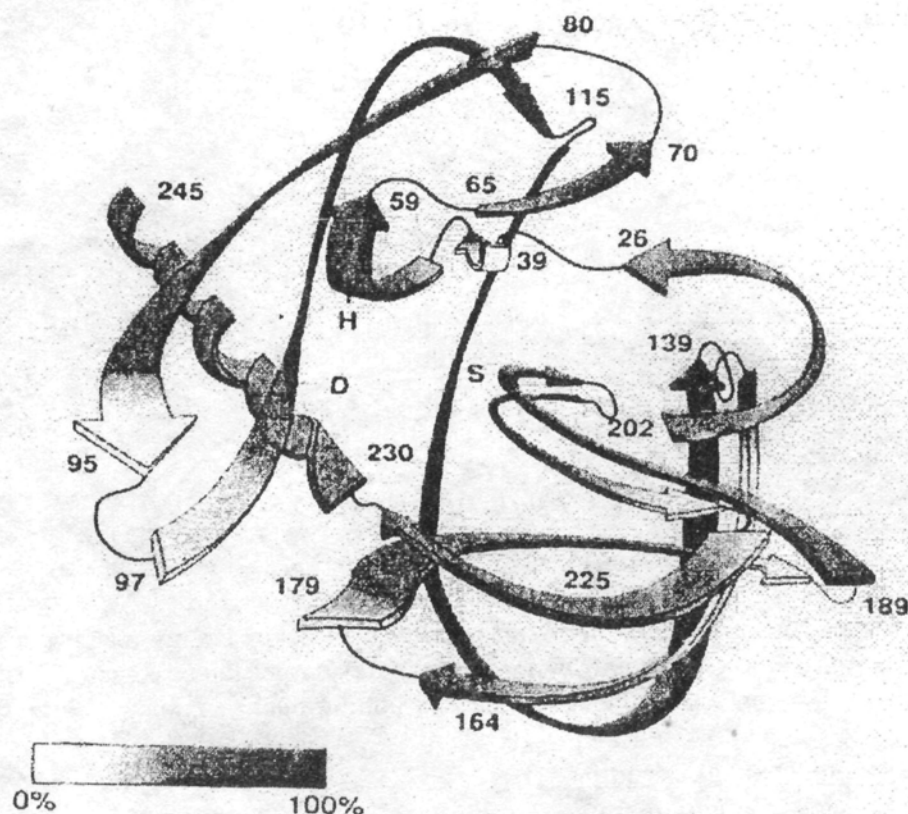


Рисунок 8.

Модель структуры тканевых калликреин-подобных ферментов (по [23] с изменениями). Интенсивность штриховки отражает степень идентичности (0-100%) различных участков молекул ферментов.

Молекулы всех калликреинов имеют домены, представляющие собой факторы роста. Поэтому сейчас особое внимание уделяется участию тканевых калликреинов в регуляции пролиферации клеток и развитии опухолевых процессов [59]. Высказывается мнение, что ферменты семейства калликреинов участвуют в процессировании большого числа регуляторных пептидов [23].

Изучена структура генов многих калликреин-подобных ферментов. Все они имеют 5 экзонов и в значительной степени структурно гомологичны. Структурно-функциональные особенности различных тканевых калликреинов и их генов интенсивно исследуются. Уже клонировано более 100 генов грызунов и около 30 генов человека, кодирующих синтез калликреинов. Получены моноклональные антитела к различным калликреинам, синтезированы гены с различными мутациями, а также гены - химеры [59,61,62].

Семейство генов тканевых калликреинов человека содержит два тесно связанных и в значительной степени гомологичных подсемейства, кодирующие тканевые калликреины и специфический простатический антиген [60].

Много исследований посвящено изучению роли тканевых протеиназ в организме, однако специфические функции отдельных представителей этого семейства протеиназ недостаточно выяснены. Как уже было указано, благодаря процессированию кининов и других регуляторных пептидов, тканевые калликреины вовлечены в поддержание системного кровяного давления [62], развитие гипертонии [63], репродуктивные функции [64], воспалительные реакции [24] и многие другие процессы адаптации и защиты.

Показано локальное образование тканевого калликреина в сосудистой стенке, найдена мРНК этого фермента, что подтверждает его важную роль в регуляции сосудистого гомеостаза [64,65]. Тканевые калликреины взаимодействуют с другими протеиназами клеток. Так, образование брадикинина при воспалении сопровождается освобождением лейкоцитарных протеиназ, в том числе коллагеназ и желатиназ, предшественники которых быстро активируются тканевыми калликреинами и катепсином G [66,67]. Освободившиеся матричные протеиназы гидролизуют множество структурных и других белков. Под действием этих протеиназ инактивируются некоторые плазменные ингибиторы протеиназ, ряд регуляторных пептидов (ангиотензин I, вещество P, брадикинин), что приводит к нарушению баланса между процессами вазоконстрикции и вазодилатации [66].

В отличие от плазменных калликреинов механизм активации предшественников тканевых калликреинов практически не изучен, а для почечных и слюнных калликреинов предшественники вообще не известны. Регуляция активности тканевых калликреинов осуществляется под действием эндогенных тканевых и плазменных серпинов, среди которых наиболее известны α_1 -протеиназный ингибитор и инактиватор протеина C [24,67].

Значимыми достижениями последних лет в изучении тканевых калликреинов является прямое введение гена человеческого тканевого калликреина спонтанно - гипертензивным крысам [67-69] и открытие главного ингибитора тканевого калликреина - каллистатина [70,71].

Интенсивные исследования в области генетики и молекулярной биологии тканевой ККС позволили создать модельные системы для изучения генетических основ гипертонии и роли ККС в регуляции артериального давления. В частности

создана уникальная модель, обеспечивающая высокий уровень тканевого калликреина в кровотоке. Для этого ген тканевого калликреина человека был помещен под контроль усилителя промотора альбуминового гена мыши, трансген конструирован в плазмиде и затем введен в печень гипертензивных крыс [69]. Показано, что введение этого гена приводит к секретированию калликреина в кровь трансгенных мышей и соответственно к снижению артериального давления. Разрабатывается система генной терапии гипертонии у человека, над которой работают более 200 исследователей из 14 стран [1]. Для решения этой проблемы проводятся исследования кодирующих ДНК и клонирование генов тканевых калликреинов, каллистатинов, кининогенов и B_1 и B_2 рецепторов брадикинина. Эти исследования позволили так же существенно продвинуться в понимании роли ККС.

3. РЕЦЕПТОРЫ БРАДИКИНИНА И ИХ ФУНКЦИИ

Прогресс в изучении функций ККС даже после детального исследования структуры и роли основных компонентов этой системы был существенно затруднен из-за нестабильности кининов *in vivo*, чрезвычайной подвижности всей системы и множественных взаимодействий с другими системами регуляции. Вовлечение брадикинина в патологические процессы оценивалось лишь по изменению уровней содержания и активности отдельных компонентов ККС, а об участии брадикинина в физиологических процессах в норме в лучшем случае только догадывались.

Серьезный прорыв, изменивший это положение, произошел в начале 80 - х годов, когда стало известно об антагонистах брадикинина [72,73]. Доступность селективных конкурентных и обратимых антагонистов брадикинина позволила понять, что ККС участвует в регуляции таких важнейших физиологических систем, как адаптация, защита, рост и размножение клеток, регуляция артериального давления, функция почек и многие другие. В результате свойства брадикинина, а именно способность расширять просвет периферических и коронарных сосудов, снижать АД, повышать проницаемость капилляров, сокращать гладкую мускулатуру бронхов и других органов, стимулировать диапедез лейкоцитов и вызывать болевой эффект были в значительной степени объяснены на молекулярном и клеточном уровне и существенно дополнены другими эффектами брадикинина. Было показано, что брадикинин освобождает гистамин из тучных клеток, стимулирует синтез и освобождение простагландинов и фактора некроза опухолей в различных тканях, освобождение ряда интерлейкинов, способствует процессам репарации и обладают инсулиноподобным действием, стимулируя захват глюкозы периферическими тканями, модулирует передачу нервных импульсов в ЦНС и периферической нервной системе, изменяет состояние гематоэнцефалического барьера [73-80]. Благодаря этим свойствам, брадикинин участвует в периферической регуляции кровяного давления и широком спектре физиологических и патофизиологических эффектов, и особенно в развитии воспаления [24].

Многообразное биологическое действие брадикинин осуществляет при взаимодействии, по крайней мере, с двумя различными специфическими рецепторами, названными B_1 и B_2 [73-77]. Основные биологические функции брадикинина и локализация его рецепторов в организме представлены в таблице. Из таблицы видно, что большинство эффектов брадикинин осуществляет через

B2 рецепторы, которые экспрессируются в различных тканях и при связывании с брадикинином участвуют в развитии боли и воспаления, особенно в дыхательных путях и при кардиоваскулярной ишемии [77-79]. Взаимодействие брадикинина с B1 рецепторами вызывает гиперальгезию, связанную с хроническим воспалением. Активация B2 и B1 рецепторов приводит к мобилизации внутриклеточного Ca^{2+} с последующим активированием протеинкиназы C, запускающей каскад передачи сигнала внутри клетки через вторичные мессенджеры, такие как оксид азота (NO), циклический гуанозинмонофосфат (цГМФ), простагландины (ПГ₂). Образование этих мессенджеров в эндотелиальных клетках и поступление их в гладкомышечные клетки обеспечивает процесс сосудистой релаксации [72-78].

Таблица. Биологические эффекты кининов и их рецепторы

Действия кининов	Ткани/Клетки	Рецепторы
вазодилатация	артериолы	B ₂ , B ₁
проницаемость капилляров	капилляры	B ₂
веноконстрикция	вены	B ₂ , B ₁
освобождение простагландинов	различные типы клеток	B ₂ , B ₁
боль	сенсорные нервы	B ₂
миграция клеток	полиморфноядерные лейкоциты лимфоциты	B ₂
репарация тканей	фибробласты	B ₂ , B ₁
бронхоконстрикция	бронхиолы	B ₂ , B ₁

Антагонисты брадикинина, эффективно взаимодействующие с рецепторами B₁ и B₂, уже используются в терапии ренитов, бронхитов, астмы, септического шока, травмы головы, онкологических заболеваний [72,75,77,78,91].

Период полураспада брадикинина в большом круге кровообращения равен 17 - 24 сек., ещё быстрее он разрушается в малом круге кровообращения [80]. Это обусловлено наличием в крови и тканях высокоактивных ферментов - кининаз, осуществляющих физиологический контроль уровня кининов. Многочисленная группа кининаз представлена металлоферментами, гидролизующими отдельные пептидные связи в молекуле брадикинина и тем самым переводящими его в неактивные продукты; расщепление любой из 8 имеющихся пептидных связей приводит к полной или частичной инактивации брадикинина [73,80]. Наиболее важную роль в метаболизме брадикинина играют два фермента - кининаза I [аргинин-карбоксипептидаза, карбоксипептидаза N (КФ 3.4.12.7)], локализованная в плазме крови, и кининаза II [карбоксикатепсин, ангиотензин - I - превращающий фермент (АПФ) (КФ 3.4.15.1)] - мембрано-связанный фермент, локализованный в эндотелии сосудов, главным образом легких, а также в тканях почек и в меньшем количестве в тканях других органов. АПФ является бифункциональным ферментом, отщепляя C - концевой дипептид он переводит ангиотензин - I в ангиотензин - II, сильный прессорный пептид и разрушает гипотензивный пептид - брадикинин. Снижение артериального давления широко распространенными ингибиторами АПФ обусловлено не только блокированием образования ангиотензина II, но и повышением уровня брадикинина [81].

В последние годы выделен ряд новых кининаз. Среди них сериновая карбоксипептидаза Y, отщепляющаяся последовательно с С - конца молекулы брадикинина - аргинин⁹, фенилаланин⁸ и пролин⁷; тиоловая эндопептидаза H, гидролизующая связи между пролином³ и глицином⁴, а также между пролином⁷ и фенилаланином⁸ [84-87].

Достижения в лечении гипертонии и миокардальной ишемии введением ингибиторов АПФ (кининазы II) открыли важное направление новой терапии таких распространенных заболеваний как астма, травма головы, диабет и другие. Так, например, блокирование бифункционального действия АПФ его ингибиторами у больных инсулин независимым диабетом не только снижает артериальное давление у этих пациентов, но и повышает захват глюкозы периферическими тканями, благодаря инсулиноподобному действию брадикинина [81,82].

Хорошо известно, что такие процессы, как гемостаз, водно-солевой обмен, многие функции желудочно-кишечного тракта и репродуцирующей системы могут повреждаться, являясь мишенями воспаления и боли, при этом центральным событием является активация ККС и образование брадикинина. Более того, даже микробиогенный патогенез с такими различными клиническими проявлениями как перитонит и диссеминированный грамм отрицательный бактериальный сепсис так же характеризуются активацией ККС [83-87].

Все эти сведения говорят о том, что изучение роли ККС уже сейчас является важнейшей областью современной клинической медицины.

Есть основания полагать, что интерес ККС будет возрастать, поскольку четко просматриваются перспективы реализации в практической медицине знаний, полученных при изучении структурно - функциональных взаимоотношений и белок-белковых взаимодействий отдельных компонентов системы, регуляции их активности и ККС в целом, генетики и молекулярной биологии ККС. Уже определены пути коррекции тяжелых патологических состояний связанных с нарушением регуляции активности ККС. В частности реальны возможности использования генотерапии в лечении тяжелой гипертонии, и возрастающего использования природных и синтетических ингибиторов калликреинов и кининаз, а так же антагонистов и агонистов брадикинина в терапии многих заболеваний.

ЛИТЕРАТУРА

1. Steinmann W. (1996) Immunopharmacology, **32**, 2 - 5.
2. Takagaki Y., Kitamura N., Nakanishi S. (1985) J. Biol. Chem., **260**, 8601 - 8609.
3. Kitamura N., Kitagawa H., Fukushima D., Takagaki Y., Miyata T., Nakanishi S. (1985) J. Biol. Chem., **260**, 8610 - 8617.
4. Hoem N-O., Johansen H.T., Johannesen S., Briseid K. (1989) Adv. Exp. Med. Biol., **247A**, 337 - 343.
5. Adam A., Albert A., Calay G., Closset J., Damas J., Franchimont P (1985) Clin. Chem., **31**, 423 - 426.

6. Müller - Esterl W., Iwanaga S., Nakanishi S. (1986) *Trends Pharmacol. Sci.*, **11**, 336 - 339.
7. Barret A.J., Rawlings N.D., Davies M.E, Machleidt W., Salvesen G., Turk V. (1986) *Proteinase Inhibitors*, Elsevier Science Publisher BV (Biomedical Division), pp.515 - 569.
8. Higashiyama S., Ohkubo I., Ishiguro H., Sasaki M., Matsuda T., Nakamura R. (1987) *Biochemistry*, **26**, 7450 - 7458.
9. Müller - Esterl W., Fritz H., Machleidt W., Ritonjga A., Brzin J., Kotnik M., Turk V., Kellermann J., Lottspeich F. (1985) *FEBS Lett*, **182**, 310 - 314.
10. Bradford H.N., Jameson B.A., Adam A.A., Wassell R.P., Colman R.W. (1993) *J. Biol. Chem.*, **268**, 26546 - 26551.
11. Gustafson E.J., Schutsky D., Knight L.C., Schmaier A.H. (1986) *J. Clin. Invest.*, **78**, 310 - 318.
12. van Iwaarden F, de Groot P.G, Sixma J.J, Berrettini M., Bouma B.M. (1988) *Blood*, **71**, 1268 - 1276.
13. Herwald H., Hasan A.A.K, Godovac - Zimmermann J., Schmaier A.H., Müller - Esterl W. (1995) *J. Biol. Chem.*, **270**, 14634 - 14642.
14. Gustafson E., Lukasiewicz H., Wachtvogel Y., Norton K., Schmaier A., Niewarowski S., Colman R. (1989) *J. Cell. Biol.*, **109**, 377 - 387.
15. Colman R.W. (1990) *Adv. Exp. Med. Biol.*, **281**, 195 - 220.
16. Wachtvogel Y.T., DeLa Cadena R.A., Kunapuli S.P., Rick L., Miller M., Schultze R.L., Altieri D.C., Edgington T.S., Colman R.W. (1994) *J. Biol. Chem.*, **269**, 19307 - 19312.
17. Colman R.W. (1996) *Immunopharmacology*, **32**, 9 - 18.
18. Herwald H., Dedio J., Kellner R., Loos M., Müller - Esterl W. (1996) *J. Biol. Chem.*, **271**, 13040 - 13047.
19. Colman R. W. et. al. (1996) *Circulation.*, **94**, 1-42.
20. Kunapuli S.P., DeLa Cadena R.A., Colman R.W. (1993) *J. Biol. Chem.*, **268**, 2486 - 2492.
21. Schmaier A.H., Schutsky D., Farber A., Silver L.D., Bradford H.N., Colman R.W. (1987) *J. Biol. Chem.*, **262**, 1405 - 1411.
22. DeLa Cadena R., Colman R. (1992) *Protein Sci.*, **1**, 151-160.
23. Murray S.R., Chao J., Chao L. (1992) *Agent Action. Supl.*, **38(1)**, 26 - 33.
24. Bhoola K.D., Figueroa C.D., Worthy K. (1992) *Pharmacol. Rev.*, **44**, 1 - 60.
25. Scott C.F., Colman R.W. (1980) *J. Clin. Invest.*, **65**, 413 - 421.
26. Schmaier A.H., Silverberg M., Kaplan A.P., Colman R.W. (1987) *Hemostasis and Trombosis. Basic principles and clinical practice*, Philadelphia: J.B.Lippincott Company, pp.18 - 37.
27. Beaubien G., Rosinski - Chupin I., Mattei M.G., Mbikay M., Chretien M., Siedan N.G. (1991) *Biochemistry*, **30**, 1628 - 1635.
28. Page J.D., Colman R.W. (1991) *J.Biol.Chem.*, **266**, 8143 - 8148.
29. Page J.D., Yen J.L., Harris R.B., Colman R.W. (1994) *Arch. Biochem. Biophys.*, **314**, 159 - 164.
30. Scott C.F, Silver L.D, Schapira M, Colman R.W. (1984) *J. Clin. Invest.*, **73**, 954 - 962.
31. Colman R.W. (1984) *J. Clin. Invest.*, **73**, 1249 - 1253.

32. *Davie E.W., Fujikawa K., Kisiel W.* (1991) *Biochemistry*, **30**, 10363-10370.
33. *Retxios A.D., Rosenfeld R., Schiffman S.* (1987) *J. Biol. Chem.*, **262**, 3074 - 3081.
34. *Tayeh M.A., Olson S.T., Shore J.D.* (1985) *J. Biol. Chem.*, **260**, 10856 - 10842.
35. *Hojima Y., Pierce J.V., Pisano J.J.* (1983) *J. Biol. Chem.*, **258**, 400 - 406.
36. *DeLa Cadena R.A., Wachtvogel Y.T., Colman R.W.* (1974) *Hemostasis and Trombosis: Basic Principles and Clinical Practice.*, Philadelphia: Lippincott J.B., Co., 219 - 240.
37. *Stadnicki A., DeLa Cadena R., Sartor R.B., Kettner C.A., Colman R.W.* (1996) *Immunopharmacology*, **33**, 314 - 316.
38. *Scott C.F., Silver L.D., Shapira M., Colman R.W.* (1984) *J. Clin. Invest.*, **73**, 954 - 962.
39. *Fujikawa K., Davie E.W.* (1981) *Meth. Enzymol.*, **80**, 198 - 211.
40. *Dunn J.T., Kaplan A.P.* (1982) *J. Clin. Invest.*, **70**, 627 - 631.
41. *Tans G., Rosing J.* (1987) *Seminar in Thrombosis and Heostasis*, **13**, 25 - 35.
42. *Scott C.F., Silver L.D., Purdon A.D., Colman R.W.* (1985) *J. Biol. Chem.*, **260**, 10856 - 10863.
43. *Nuigens J.H., Huijbregts C.C., Eerenberg - Belmer A.J.M., Meijers J.C.M., Bouma B.N., Hack E.* (1989) *J. Biol. Chem.*, **264**, 12941 - 12949.
44. *Miles L.A., Greengard J.S., Griffin J.H.* (1983) *Thromb. Res.*, **29**, 407 - 417.
45. *Ichinose A., Fujikawa K., Suyama T.* (1986) *J. Biol. Chem.*, **261**, 3486 - 3489.
46. *Lenich C., Pannell R., Gurewich V.* (1995) *Thromb. Haemost.*, **74**, 698 - 703.
47. *Loza J.P., Gurewich V., Johnstone M., Pannell R.* (1994) *Thromb. Haemost.*, **71**, 347 - 352.
48. *Gurewich V., Johnstone M., Loza J.P., Pannell R.* (1993) *FEBS Lett.*, **318**, 317 - 321.
49. *Colman R.W.* (1993) *Agent. Action. Suppl.*, **42**, 125 - 143.
50. *Kaplan A.P., Silverberg M.* (1987) *Blood.*, **70**, 1 - 15.
51. *Cardin A.D., Jackson R.L., Donaldson V.H., Chao J., Margolius H.S.* (1986) *Adv. Exp. Med. Biol.*, **198, Part B**, 195 - 202.
52. *Schapira M.* (1987) *Seminars in Thrombosis and Haemostasis.*, **13**, 69 - 78.
53. *Espana F., Estelles A., Griffin J.H., Aznar J.* (1991) *Thrombosis and Haemostasis.*, **65**, 46 - 51.
54. *Yarovaya G.A., Dotsenko V.L., Neshkova H.A.* (1991) *Intern. Conf. Kinin 91. Munich. Toward Understandig. The Molecular Basis of Kinin Action. Abs.*, 188.
55. *Dotsenko V.L., Neshkova H.A., Yarovaya G.A.* (1992.) *Agent and Action. Supl.*, **38/II**, 144 - 156.
56. *Yarovaya G., Shutov E., Jebelenco G., Dotsenko V., Neshkova H.* (1996) *Immunopharmacology*, **32**, 135 - 140.
57. *Fritz H., Jochum H., Geiger R., Duswald Kh., Dittmer H., Kortmann H., Neumann S., Lang H.* (1986) *Folia Histochem. Citobiol.*, **24**, P.99 - 119.
58. *Jochum M., Machleidt W., Fritz H.* (1993) *Handbook of Mediators in Septic Shock*, London, Tokyo: CRC Press., 335 - 361.
59. *Mignatti P., Rifkin D.B.* (1993) *Physiol. Rev.*, **73**, 161 - 195.
60. *Prado E.S., Juliano L., Araujo-Viel M.S., Juliano M.A.* (1986) *Adv. Exp. Med. Biol.*, **198, Part B**, 241-247.

61. *Elmoujahed A., Gutman N., Brillard M., Gouthier F.* (1990) *FEBS Lett.*, **265**, 137 - 140.
62. *Brady A., MacDonald R.J.* (1990) *Arch.Biochem.Biophys.*, **278**, 342 - 349.
63. *Wang J., Xiong W., Yang Z., Davis T., Deney M.J., Chao J., Chao L.* (1994) *Hypertension.*, **23**, 236 - 243.
64. *Bonner G., Preis S., Schunk U., Iwersen D.* (1988) *The Kallikrein - Kinin System in Health and Disease.*, Germany: Limbach - Verlag Braunschweig, 79 - 96.
65. *Margolius H.S.* (1989) *Ann.Rev.Pharmacol.Toxicol.*, **29**, 343 - 364.
66. *Lopes - Martins, R.A.B., Antunes E., Oliva M.L., Sampaio C., Burton J., de Nucci G.* (1994) *Br.J.Pharmacol.*, **113**, 81 - 86.
67. *Nagase H., Salvesen G.* (1993) *Innovation in Proteases and their Inhibitors.*, New - York; Walter de Gruyter, 315 - 332.
68. *Song O., Chao J., Chao L.* (1996) *Immunopharmacology*, **32**, 105 - 107.
69. *Wong J., Chao L., Chao J.* (1995) *J.Clin.Invest.*, **95**, 1710 - 1716.
70. *Zhou G.H., Chao L., Chao J.* (1992) *J.Biol.Chem.*, **267**, 25873 - 25880.
71. *Chao J., Chai K.X., Chao L.* (1996) *Immunopharmacology.*, **32**, 67 - 72.
72. *Stewart J.M.* (1989) *Mediators of the Inflammatory Processes*, Amsterdam., pp. 189 - 217.
73. *Reissmann S., Greiner G., Seyfarth L., Paegelow I., Werner H., Vietinghoff G., Boeckmann S., Schulz E., Wartner U., Gera L.* (1996) *Immunopharmacology.*, **33**, 73-80.
74. *Ellis E.F.* (1990) *New - Trends in Lipid Mediators Research.*, Basel; Karger., pp.129 - 145.
75. *Farmer S.G., Burch R.M.* (1991) *Pharmacology of bradykinin receptors in bradykinin antagonists: basic and clinical research.* Burch R.M. ed. Marcel Dekker Inc., N.Y., 1 - 32.
76. *Hall J.M.* (1992) *Pharmacol. Thes.*, **56**, 131 - 190.
77. *Marceau F.* (1999) *Immunopharmacology.* **43**, 1 - 26.
78. *Rodell T.C.* (1996) *Immunopharmacology.*, **33**, 279 - 283.
79. *Regoli D., Barabe J.* (1980) *Pharm. Rev.*, **32**, 1-46.
80. *The Kallikrein - Kinin System in Health and Disease.* (1989) Munich: Limbach - Verlag Braunschweig, p. 374.
81. *Uehara M., Kishikawa H., Isomi S., Kisanuki K., Ohkubo Y., Miyamura N., Miyata T., Yano T. and Shiciri M.* (1994) *Diabetologia*, **37**, 300-307.
82. *Доценко В.Л., Демидова Т.Ю., Нешкова Е.А., Аметов А.С., Яровая Г.А.* (1998) *Вопр. мед. химии.*, **44**, 203 - 212.
83. *Wickimayr M., Rett K., Dietz G., Mehnert H* (1989) *Horm. Metabol. Res.*, **21**, 292 - 293.
84. *Skidgel R.A.* (1988) *Trends. Pharmacol. Sci.*, **9**, 299 - 304.
85. *Skidgel R.A.* (1992) *J. Cardiovasc.Pharmacol.*, **20**, (Suppl.9), 54 - 59.
86. *Skidgel R.A., Davis R.M., Erdos E.G.* (1984) *Anal. Biochem.*, **140**, 520 - 531.
87. *Skidgel R.A., Erdos E.G.* (1993) *The Renin Angiotensin System.*, London: Gower Medical Publishing., 10.1-10.10.
88. *Rojkar R., Schmaier A.H* (1999) *Proc. Assoc. Am. Phys.*, **111**, 220-227.
89. *Kusuman Y., Shibayama Y., Kaplan A.P.* (1999) *Immunopharmacology*, **43**, N2-3, 203-210.

- 90 *Shcherbakova I., Neshkova E., Dotsenko V., Platonova T., Shcherbakova E., Yarovaya G.* (1999) *Immunopharmacology.*, **43**, 273-279.
- 91 *Stewart J.M., Gera L., York E.J., Chan D.C., Bunn P.* (1999) *Immunopharmacology.*, **43**, 155-161.

Поступила 09.11.2000

KALLIKREIN-KININ SYSTEM: A REVIEW

G.A.YAROVAYA

Russian Postgraduate Medical Academy, 2 Barrikadnaya str., Moscow, 123836 Russia, tel (095) 945 2415, E-mail: yarov@cardpl.msk.ru

The kallikrein-kinin system (KKS) is the key proteolytic system participating in control of a wide spectrum of physiological functions and the development of many pathological conditions. This explains great interest in structures, functions and molecular biology of separate components of the system, molecular mechanisms of their interaction and relationship with other regulatory systems. The information in this field for the last two decades clarifies the role of KKS in morphogenesis of cells, regulation of smooth muscular contractility of some organs, decrease of blood pressure, increase of vascular permeability, the development of inflammation, transformation of cells and the other functions of both physiological and pathological processes.

Essential progress in understanding of functions KKS was made by the discovery and study of bradykinin receptors, cloning of kininogen and kallikrein encoding genes, revealing of domain structure of kininogen, prekallikrein and some kininase and decoding of mechanisms of contact phase of proteolytic system activation in blood plasma.

Key words: kallikrein – kinin system, kininogen, bradykinin, prekallikrein, kallikrein, bradykinin receptors.