

УДК 577.152.341*51
©Кугаевская, Елисеева

ИНГИБИТОРЫ АПФ – АКТИВАТОРЫ РЕЦЕПТОРОВ КИНИНОВ

Е.В. Кугаевская, Ю.Е. Елисеева

Учреждение Российской академии медицинских наук Научно-исследовательский институт биомедицинской химии имени В.Н. Ореховича РАМН,
Погодинская ул. 10, 119121 Москва; тел.: (499) 246-5072; факс: (499) 245-0857;
эл. почта: Elena.Kugaevskaya@ibmc.msk.ru

Ингибиторы ангиотензин превращающего фермента (АПФ) широко используются для лечения сердечно-сосудистых заболеваний. Исследование взаимодействия ингибиторов АПФ с рецепторами брадикинина показало, что ингибиторы АПФ потенцируют действие брадикинина, не только блокируя его инактивацию, но и вызывая активацию его рецепторов. Установлен механизм активации рецепторов кининов B_2R и B_1R ингибиторами АПФ. Охарактеризованы структурные особенности рецепторов кининов. Определены аминокислотные остатки, участвующие в сопряжении кининовых рецепторов с G белками. Рассматривается роль кининов и их рецепторов в положительном терапевтическом действии ингибиторов АПФ.

Ключевые слова: рецепторы кининов, ингибиторы ангиотензин превращающего фермента, кардиопротекция.

ВВЕДЕНИЕ. Ангиотензин превращающий фермент (АПФ, пептидил-дипептидаза А, КФ 3.4.15.1) – ключевой фермент ренин-ангиотензиновой и кинин-калликреиновой систем [1-3], - играет существенную роль в регуляции артериального давления (АД), а также участвует в гомеостазе клеточного роста различных типов клеток, является физиологическим регулятором гематопозитического пептида (N-AcSer-Asp-Lys-Pro) [4]. Поскольку АПФ участвует в метаболизме вазоактивных пептидов – образует сосудосуживающий ангиотензин II (АП) и инактивирует сосудорасширяющий брадикинин (Бк), – он становится важнейшей мишенью в лечении заболеваний сердечно-сосудистой системы.

Ингибиторы АПФ (иАПФ) широко применяются для лечения гипертонии [5], сердечно-сосудистой недостаточности [6], а также заболеваний, связанных с нарушениями кровообращения, спазмами сосудов, ишемией ткани [7]. Однако, несмотря на превосходные результаты, продемонстрированные в течение почти трёх десятилетий на миллионах пациентов во всем мире, полностью механизм действия иАПФ был установлен сравнительно недавно. Клинические и экспериментальные исследования последних лет показали, что высокую эффективность иАПФ нельзя объяснить только снижением количества АП в кровяном русле и накоплением эндогенных кининов [8]. Роль кининов

* - адресат для переписки

в кардиопротективном воздействии иАПФ оказалась значительно более существенна, чем предполагалось ранее. При оценке вклада кинин-калликреиновой системы в суммарный терапевтический эффект, возникающий при лечении иАПФ, было установлено, что, по крайней мере, часть основных и побочных эффектов связана с потенцированием эффектов Бк [9-12]. В ряде исследований было продемонстрировано, что иАПФ могут активировать рецепторы кининов [13-15]. В обзоре будут рассмотрены данные последних лет, касающиеся кинин-зависимого механизма действия иАПФ.

1. ОБРАЗОВАНИЕ И МЕТАБОЛИЗМ КИНИНОВ.

Кинины – группа олигопептидов с большим спектром физиологической активности, участвующих в регуляции тонуса сосудов, уровня артериального давления, проницаемости, болевых реакциях организма. Кинины являются связующим звеном между системами регуляции кровяного давления и системами свертывания крови и фибринолиза. Они участвуют в таких патологических процессах, как воспаление, отек, нарушения гемодинамики, ишемическое повреждение миокарда, нефротический синдром, бронхиальная астма и др. Одним из важнейших свойств кининов является способность освобождать цитокины, такие как интерлейкин-1 (IL-1), фактор некроза опухоли (TNF α), а также вторично генерируемые медиаторы – NO (оксид азота), простагландины и лейкотриены, которые образуются в результате активации кининами фосфолипазы 2 [16].

В тканях млекопитающих идентифицированы четыре типа кининов: нонапептид Бк, Lys-Бк (каллидин), des-Arg⁹-Бк и des-Arg¹⁰-Lys¹-Бк (рис. 1). Источником Бк и Lys-Бк в организме являются кининогены – мультидоменные белки, содержащие в своем составе кроме последовательности Бк домены, принимающие участие в осуществлении ряда некоторых других функций [17]. Освобождение кининов из кининогенов происходит за счет гидролиза кининогеназами, главными из которых являются калликреины [16, 18].

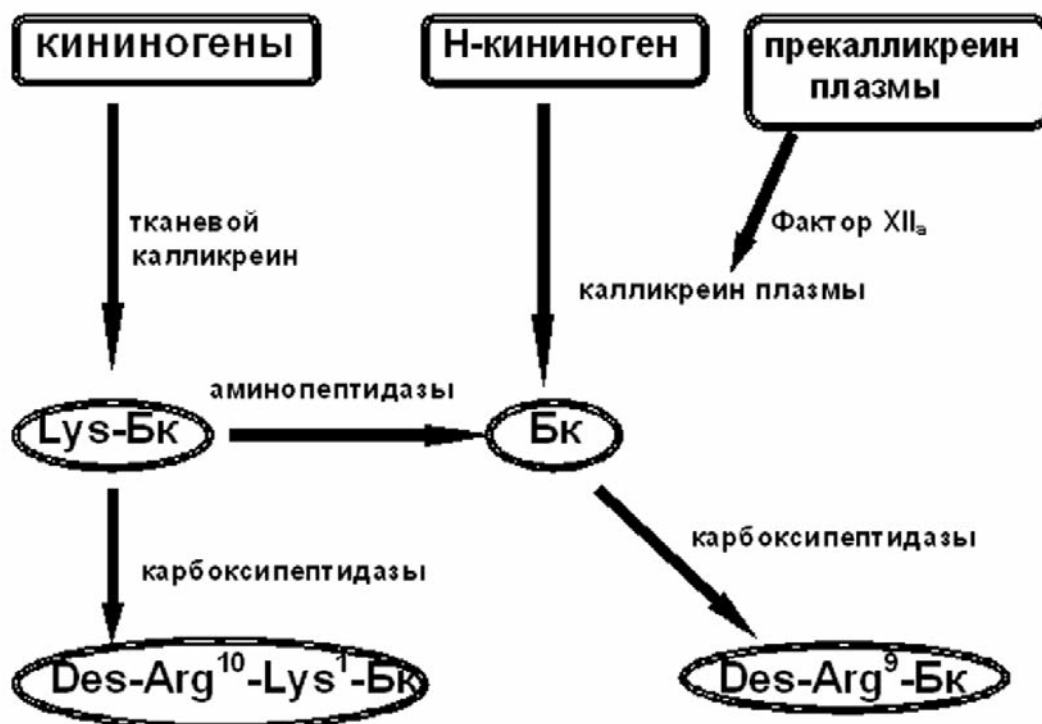


Рисунок 1.
Образование кининов.

Метаболизм Бк и Lys-Бк осуществляется различными кининазами, находящимися в кровяном русле и на поверхности клеток (рис. 2). Главные среди них – АПФ, карбоксипептидаза N, карбоксипептидаза М, аминопептидаза М и нейтральная эндопептидаза 24.11 (НЭП). Гидролиз кининов карбоксипептидазами N и М приводит к образованию их биологически активных метаболитов – des-Arg⁹-Бк и des-Arg¹⁰-Lys¹-Бк [19, 20]. Аминопептидаза М гидролизует как кинины, так и их метаболиты в результате чего из Lys-Бк образуется Бк, а из des-Arg¹⁰-Lys¹-Бк образуется des-Arg⁹-Бк [21, 22].

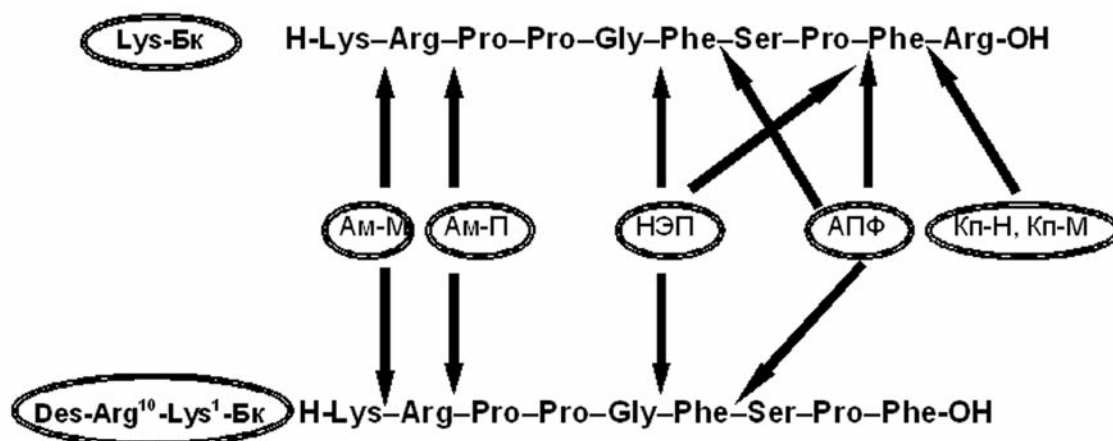


Рисунок 2.

Гидролиз кининов различными протеиназами.

Ам-М - аминопептидаза М, Ам-П - аминопептидаза П, НЭП- нейтральная эндопептидаза 24.11, АПФ - ангиотензин превращающий фермент, Кп-Н - карбоксипептидаза Н, Кп-М-карбоксипептидаза М.

Кинины очень быстро инактивируются в кровяном русле (время полужизни составляет 15–30 с.), их концентрация во всех биологических жидкостях крайне низкая [23]. НЭП и АПФ – основные ферменты гидролизующие кинины с образованием неактивных метаболитов. АПФ играет существенную роль в метаболизме кининов. Сродство этого фермента к Бк в 100 раз выше, чем к АП [24]. АПФ инактивирует как сами кинины (последовательно отщепляя два С-концевых дипептида), так и их активные метаболиты (отщепляя С-концевые трипептиды) 25. НЭП инактивирует кинины, гидролизуя связи Gly⁴-Phe⁵ и Pro⁷-Phe⁸ с образованием конечного продукта Бк₁₋₄ [23, 26]. Однако des-Arg⁹-кинины отличаются большей устойчивостью к воздействию кининаз. Так, время полужизни des-Arg⁹-Бк от 4 до 12 раз больше, чем у Бк при тех же условиях [27]. Такая разница может объясняться следующим образом. Во-первых, des-Arg⁹-кинины не могут гидролизываться карбоксипептидазами (М и N); во-вторых, они обладают низким сродством к АПФ, который отщепляет от des-Arg⁹-кининов С-концевой трипептид с образованием БК₁₋₅ с гораздо более низкой скоростью, чем С-концевой дипептид Бк. Кроме того, более высокая устойчивость к дальнейшему гидролизу des-Arg⁹-кининов может объясняться тем, что С-концевое положение Phe⁸ может защищать связь Pro⁷-Phe⁸ от воздействия эндопептидазы НЭП [28]. Кроме АПФ и НЭП, в инактивации des-Arg⁹-кининов принимает участие и аминопептидаза М, что было продемонстрировано на изолированной пупочной артерии человека [29].

2. РЕЦЕПТОРЫ КИНИНОВ

2.1. Классификация рецепторов кининов. Действие кининов в организме реализуется путём взаимодействия с рецепторами двух типов – B_1 и B_2 рецепторами (B_1R и B_2R), относящимися к суперсемейству рецепторов, сопряжённых с G-белками (GPCR) [16, 30]. Основные различия между B_1R и B_2R заключаются в их экспрессии, специфичности и физиологических эффектах, за которые они отвечают. B_2R конститутивно экспрессированы на многих типах клеток [31]. Они легко подвергаются обратной регуляции. Результатом активации B_2R является быстрая интернализация рецептора, что лимитирует время связывания с лигандом. Селективными агонистами B_2R являются пептиды Бк и Lys-Бк. Чувствительность B_2R к этим кининам намного выше, чем к их метаболитам des-Arg⁹-Бк и des-Arg¹⁰-Lys¹-Бк. Именно поэтому B_2R отвечают за главные из всех фармакологических эффектов кининов – бронхоспазм, гипотензию, острые воспалительные реакции, формирование отека, боль [32, 33].

B_1R при физиологических условиях определяются слабо, но существенно экспрессируются при патологических состояниях [20]. Например, индукция B_1R происходит в процессе воспаления; индукторами в этом случае являются цитокины (интерлейкин-1, интерлейкин-6), TNF α и бактериальные липополисахариды. B_1R , в отличие от B_2R , относятся к не интернализуемым рецепторам; будучи проиндуцированы они длительное время взаимодействуют с лигандами, так как понижение их уровня происходит медленно [34]. Селективными агонистами B_1R являются des-Arg⁹-Бк и des-Arg¹⁰-Lys¹-Бк. Бк также может активировать B_1R , но сила связывания с этим рецептором у него намного меньше, чем у его метаболитов. Главные эффекты, за которые отвечают B_1R , включают расширение сосудов, экстравазацию белков плазмы, боль при воспалении и активацию взаимодействия лейкоцитов с эндотелиальными клетками [33, 35].

В дыхательных путях человека не были обнаружены функциональные B_1R ; воздействие агонистов B_1R (des-Arg⁹-Бк и des-Arg¹⁰-Lys¹-Бк) не вызывало бронхоспазм. Последний легко развивался в ответ на вдыхание агониста B_2R – Бк, что свидетельствует об ответственности за его развитие B_2R . Результаты этого функционального исследования хорошо согласуются с другим исследованием, в котором была показана большая плотность B_2R в эпителии и в гладкой мускулатуре дыхательных путей и в нервах [36]. Кроме того, было продемонстрировано, что индуцируемый Бк спазм бронхов тормозит селективный антагонист B_2R – НОЕ 140 (икатибант), что убедительно подтвердило участие B_2R в реализации воздействия Бк на дыхательные пути.

2.2. Антагонисты рецепторов кининов. Антагонисты B_1R были открыты почти на 10 лет раньше, чем антагонисты B_2R . Первое поколение таких соединений представляли пептиды на основе des-Arg⁹-Бк, у которого была произведена замена остатка Phe⁸ на аминокислотный остаток либо с алифатической углеводородной цепью (Ala, Ile, Leu, d-Leu или NLeu), либо с насыщенной циклической цепью (циклогексилаланин). Все эти соединения обладали различной способностью блокировать B_1R , а самым сильным из них являлся (Leu⁸)des-Arg⁹-Бк [19]. Однако они являлись частичными агонистами B_1R у некоторых видов млекопитающих, особенно у крысы и мыши [20]. Некоторые из этих пептидов нашли практическое применение в качестве обезболивающих препаратов, т.к. за возникновение боли у млекопитающих отвечают в основном B_1R .

Первое поколение антагонистов B_2R базировалось на структуре (D-Phe⁷)-Бк [37], но эти пептидные соединения проявляли свою активность по типу “антагонист/частичный агонист” и обладали слабой силой связывания с B_2R . Эта проблема была разрешена при создании второго поколения B_2R -антагонистов, у которых к пептидному скелету была добавлена дополнительная жёсткость за счёт введения неприродных аминокислотных остатков. Оказалось, что для проявления антагонизма очень важна определенная пространственная ориентация

С-концевого участка молекулы. У оптимальных пептидных антагонистов B₂P сохранены аминокислотные остатки Arg¹ и Arg⁹, в отличие от агонистов и антагонистов B₁P, где отсутствует аминокислотный остаток Arg⁹, как, например, в пептиде (Leu⁸)des-Arg⁹-Бк.

Второе поколение пептидных антагонистов B₁P включает в свою структуру N-концевой аминокислотный остаток Lys или его аналог Orn, который значительно повышает аффинность антагонистов по отношению к B₁P человека [30]. Представителем второго поколения пептидных антагонистов B₂P является икатибант [38]. Его взаимодействие с B₂P в значительной степени зависит от межвидовых различий [39]. Для B₂P человека икатибант является сильным конкурентным антагонистом [20].

Создание третьего поколения антагонистов кининовых рецепторов базировалось на поиске среди непептидных соединений, обладающих высокой липофильностью и низкой молекулярной массой, которые могли бы применяться орально. В природных источниках также были обнаружены антагонисты кининовых рецепторов, например пиролоквинолиновый алкалоид мартинеллин, полученный из растения *Martinella iquitosensis* [40].

2.3. Структурные особенности рецепторов кининов (B₁P и B₂P). Оба типа рецепторов клонированы; показано, что они находятся на поверхности клеток и относятся к суперсемейству GPCR рецепторов [34]. Впервые рецептор Бк был клонирован из матки крысы; исследование его фармакологического профиля показало, что он относится к типу B₂P [41]. Впоследствии B₂P были изолированы и секвенированы из различных органов млекопитающих, включая человека [42]. Межвидовая гомология аминокислотной последовательности B₂P оказалась довольно высокой – более 81% [33, 43]. Анализ кДНК B₂P человека, клонированного из легочных фибробластов, показал, что его аминокислотная последовательность включает 364 аминокислотных остатка и характеризуется наличием семи трансмембранных доменов, трёх внутриклеточных и трёх внеклеточных полипептидных петель (рис. 3). Это позволило классифицировать B₂P как рецептор, относящийся к суперсемейству GRCP. В участках последовательности B₂P, расположенных на поверхности клетки, были обнаружены 3 участка N-гликозилирования. Позднее в B₂P были обнаружены такие пептидные мотивы, как DRY (играющий основную роль в реализации путей сигнальной трансдукции в суперсемействе GRCP) и NPXXY, которые являются общими для большинства рецепторов родопсинового семейства, относящегося к суперсемейству GPCR [44]. Кроме того, было показано, что на С-конце B₂P расположены аминокислотные остатки серина и треонина, которые предположительно являются участками фосфорилирования, и остатки цистеина, которые могут являться участками ацилирования [34].

Структура B₁P была установлена несколько позднее после клонирования и секвенирования соответствующей кДНК эмбриональных клеток человека [43]. Определение последовательности нуклеотидов в кДНК показало, что B₁P является гомологом B₂P, имеет 3 участка N-гликозилирования, пептидные мотивы DRY и NPXXY, и состоит из 353 а.о. Гомология последовательностей B₁P и B₂P в области трансмембранных участков составляет примерно 35% [42, 43] (рис. 3). Позднее было обнаружено, что B₁P (в отличие от B₂P) содержит Zn-связывающий мотив – HEAWN (195-199 а.о.), который расположен во второй внеклеточной петле его молекулы [45]. Дальнейшие исследования выявили довольно высокую степень гомологии (68–78%) между B₁P человека и B₁P некоторых других видов млекопитающих (кролика, мыши, крысы) [46-48].

Недавно было показано, что при экспрессии B₁P на поверхности клетки происходит их олигомеризация [49]. Отсечение N- и С-концевых остатков рецептора показало, что эпитоп, ответственный за олигомеризацию, локализован между остатком Leu²⁶, расположенным в верхней I-ТМ, и остатком Val⁷¹, находящимся в нижней части II-ТМ.

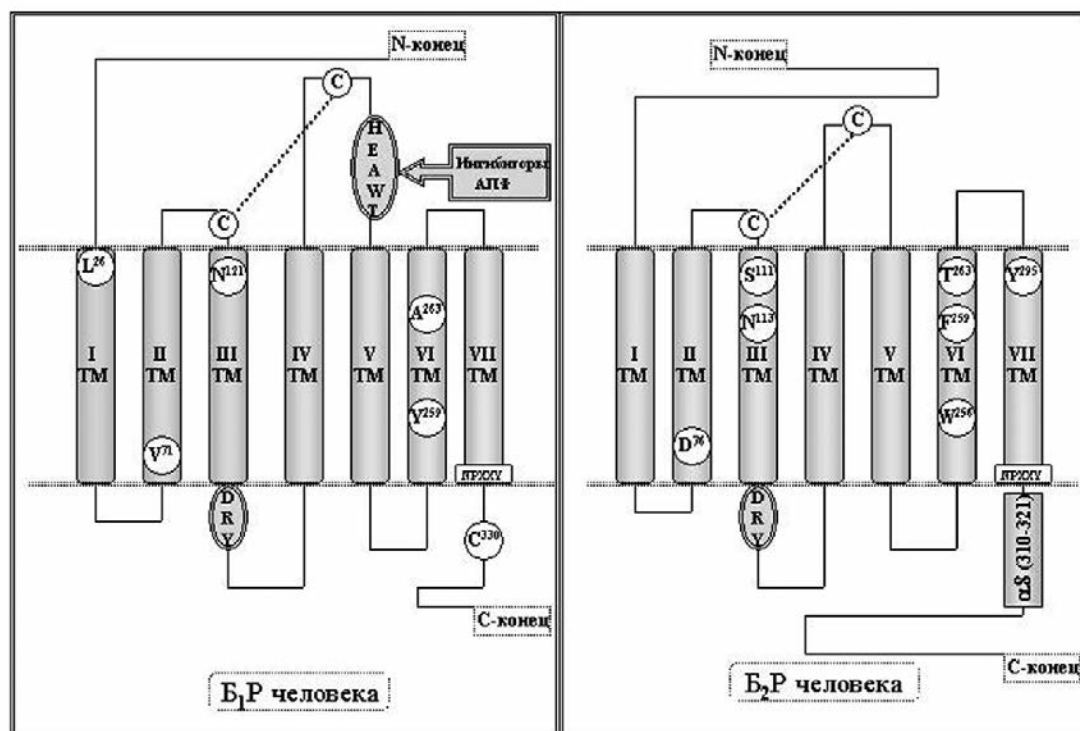


Рисунок 3.

Схематическое изображение структуры кининовых рецепторов человека.

TM - трансмембранные домены рецепторов.

Двойная пунктирная линия, расположенная над TM - внешняя поверхность мембраны клетки;
двойная пунктирная линия, расположенная под TM - цитоплазматическая поверхность мембраны клетки.

Кружками обозначены аминокислотные остатки, обсуждаемые в обзоре.

2.4. Механизм активации рецепторов кининов. GPCR-рецепторы воспринимают внеклеточный сигнал и передают его в цитоплазму активируя G-белок, который запускает дальнейшие биохимические процессы, связанные с изменением концентрации одной или нескольких внутриклеточных сигнальных молекул. Участок рецептора, ответственный за взаимодействие с первичным сигналом, локализован с внешней стороны мембраны, а участок, контактирующий с G-белком, – на её цитоплазматической стороне. Взаимодействие GPCR-рецептора с первичной сигнальной молекулой вызывает изменение его конформации, приводящее к взаимодействию (сопряжению) с G-белком. Так, в результате активации B₁R и B₂R селективными агонистами происходит их сопряжение с G α_q -белками, что приводит к активации фосфолипазы C₂(PLC), гидролизу фосфатидилинозита (PI) и накоплению внутриклеточного Ca²⁺ [50]. В клетках эндотелия накопление цитозольного Ca²⁺ приводит к усилению метаболизма арахидоновой кислоты за счёт активации цитозольной фосфолипазы A₂ (сPLA₂) и увеличению NO за счет активации кальций-калмодулин-зависимой NO-синтазы (eNOS). Эндотелиальный простагландин (PGE₂) и NO через образование cAMP и cGMP отвечают за множество фармакологических эффектов кининов, таких как расслабление гладкомышечных стенок сосудов, антипролиферативное и антиишемическое воздействия [9, 51].

Сравнительное исследование структурно-функциональных особенностей B_1P и B_2P человека позволило охарактеризовать участки последовательности, отвечающие за распознавание ими селективных агонистов [52]. Для изучения были выбраны участки, отвечающие за формирование предполагаемого кармана связывания в B_2P , включающие VI-ТМ и примыкающие к нему экстрацеллюлярные остатки. Были сконструированы химерные B_1P и B_2P (B_1Px и B_2Px), в которых VI-ТМ домены поменяли местами. Оказалось, что такая замена очень сильно снижает афинность B_2Px к селективному агонисту B_2P – Бк. Полное восстановление утраченной афинности наблюдалось, когда остатки Tyr²⁵⁹ и Ala²⁶³, входящие в состав экстрацеллюлярной области B_2Px и относящиеся к VI-ТМ B_1P , были заменены на соответствующие остатки природного B_2P – Phe²⁵⁹ и Thr²⁶³ (рис. 3). И наоборот, замена на VI-ТМ B_2P в B_1Px снижает его высокую селективность по отношению к агонисту B_1P – Lys-des-Arg¹⁰-Бк. Однако последняя химера функционирует при высокой концентрации как Lys-des-Arg¹⁰-Бк, так и Lys-Бк. По-видимому, связывание лигандов B_1P в меньшей степени (по сравнению с B_2P) зависит от структурных особенностей VI-ТМ.

В другом эксперименте была установлена существенная роль III-ТМ в связывании B_1P и B_2P человека их селективных агонистов [53]. Как и в предыдущем исследовании, в B_1P и B_2P меняли местами III-ТМ и изучали способность полученных химер к связыванию селективных агонистов – Бк и Lys-des-Arg¹⁰-Бк. Было установлено, что это сильно снижает афинность B_1Px и B_2Px к агонистам. Восстановление афинности B_2Px к Бк наблюдалось при замене остатка Lys¹¹⁸ (рис. 3), относящегося к III-ТМ B_1P , на соответствующий остаток природного B_2P – Ser¹¹¹. По-видимому, III-ТМ закрывает снаружи VI-ТМ, и Lys¹¹⁸, расположенный в III-ТМ B_1P , отталкивает лиганды с положительно заряженным С-концевым Arg⁹, чем и определяется селективность B_1P по отношению к des-Arg⁹-Бк-гомологам.

Как и у других представителей семейства GPCR, неактивное и активное конформационное состояние B_1P и B_2P во многом зависит от их спонтанной изомеризации. Свидетельство об агонист-независимой, спонтанной активации B_2P впервые было получено в экспериментах с тремя антагонистами B_2P (NPC17731, NPC567 и HOE140) на первичной культуре клеток миоэпителии беременных крыс. В этой системе все три антагониста ингибировали (дозозависимо и Бк-независимо) базальный клеточный гидролиз PI [54]. Присутствие спонтанной активации B_2P было также обнаружено в культуре НЕК293-клеток, трансфицированных B_2P [55, 56]. Предполагается, что конститутивная активация B_2P связана с мутацией специфических аминокислотных остатков в трансмембранных петлях, принимающих участие в “межпетлевых” контактах, которые стабилизируют неактивную конформацию рецептора. Например, замена остатка Asp⁷⁶ (II-ТМ) на Asn в B_2P крысы приводит к 3-х кратному увеличению агонист-независимой активности [57]. Снижение концентрации ионов натрия также приводило к увеличению агонист-независимой активности B_2P , однако этот эффект терялся под влиянием мутации остатка Asp⁷⁶. Было выдвинуто предположение, что ионы натрия стабилизируют неактивное состояние рецептора, взаимодействуя с Asp⁷⁶. Однако у человека мутация в соответствующем аминокислотном остатке B_2P (Asp⁷⁸) не подтвердила его роль [56]. С другой стороны, замена остатка Asn¹¹³ (III-ТМ) на Ala увеличивала активность B_2P человека в 40 раз. Небольшое, но заметное увеличение наблюдалось также при замене остатка Trp²⁵⁶ (VI-ТМ) на Ala (рис. 3).

Эти наблюдения послужили основой для создания модели активации B_2P человека [58]. Предполагается, что неактивное состояние B_2P стабилизируется взаимодействием остатков Asn¹¹³(III-ТМ) и Trp²⁵⁶(VI-ТМ), чему благоприятствует связывание рецептора с непептидным антагонистом LF16-0335, часть молекулы которого, по-видимому, располагается между остатками Tyr²⁹⁵(VII-ТМ) и Trp²⁵⁶(VI-ТМ) – эпитопами необходимыми для связывания этого лиганда. Также предполагается, что у B_2P , находящегося в активном состоянии,

в связывании лигандов участвует остаток Phe²⁵⁹ вместо Trp²⁵⁶. Взаимодействие с остатком Phe²⁵⁹ считается преимущественным для агонистов B₂P, так как установлено, что он является необходимым, специфическим эпитопом для связывания B₂P как с высокоаффинным Бк [59, 60, 52], так и с непептидным агонистом FR19099 [61].

В природных системах до настоящего времени не обнаружено присутствие конститутивной активности B₁P; она проявляется только при использовании селективных агонистов [62, 63]. Лиганд-независимая конститутивная активность B₁P, идентифицированная по увеличению базального клеточного уровня гидролиза PI, обнаружена в культуре НЕК293-клеток, экспрессирующих B₁P человека. Уровень конститутивной активности B₁P в этих клетках был столь же высоким, как в случае агонист-стимулированных B₂P; стимуляция активности B₁P в этой культуре наблюдалась также при воздействии агонистов. Методом точечного мутагенеза были определены аминокислотные остатки, имеющие существенное значение при активации B₁P [63]. Были сконструированы мутантные B₁P крысы, содержащие единичные замены аминокислотных остатков в регионах, отличающихся наибольшей консервативностью в суперсемействе GRCP. Как было установлено ранее, высоко консервативным остатком I-TM GRCP является Asn⁵⁴ [64]. Существовало предположение, что как и у некоторых других рецепторов этого суперсемейства, консервативные участки I-TM B₁P вовлечены в процесс его активации. Было установлено, что, например, в α_{1B} -адренорецепторах при замене гомологичного остатка Asn в I-TM на остаток Ala наблюдалась умеренная конститутивная активация рецепторов [65]. Однако в случае B₁P подобная мутация не вызывала повышения конститутивной активации. Вторая мутация касалась остатка Asp¹⁴⁴, относящегося к высоко консервативному DRY-мотиву (триплет Asp-Arg-Tyr), локализованному на границе III-TM и второй внутриклеточной петли B₁P. Ранее было установлено, у некоторых рецепторов этого суперсемейства мутация остатка Asp DRY-мотива приводит к конститутивной активации [66-68]. Однако, как и в первом случае, мутация остатка Asp¹⁴⁴ в B₁P не приводила к значимой конститутивной активации. Впрочем, подобные результаты были получены и для некоторых других GRCP-рецепторов – адренэргических и мускариновых [69, 70]. Третья мутация была связана с остатком Asn¹³⁰, расположенным в B₁P на расстоянии 14 а.о. от DRY-мотива ближе к N-концу молекулы. Мутации в гомологичной позиции, такие как Cys¹²⁸ – в α_{1B} -адренорецепторе [71], Cys¹¹⁶ – в β_2 -адренорецепторе [72] и Asn¹¹¹ – в AT₁-рецепторе ангиотензина [73] приводили к конститутивной активации рецепторов, что указывало на значимость этой аминокислотной позиции в регулировании конформационных изменений в молекуле рецептора [72]. Основываясь на данных молекулярного моделирования и данных о конститутивной активации AT₁ рецептора при замене Asn¹¹¹ на Ala, Bonnafos с соавт. было высказано предположение, что остатки Asp⁷⁴, Asn¹¹¹ и Trp²⁵³ вовлечены в процесс активации AT₁ рецептора [73]. В B₁P аналогичные аминокислотные остатки также являются консервативными (Asp⁹³, Asn¹³⁰ и Trp²⁷³ – в B₁P крысы). Мутация гомологичного остатка Asn¹³⁰ на остаток Ala в B₁P крысы также вызывала значительную конститутивную активацию рецепторов [63]. Аналогичные результаты были получены и для B₁P человека, где была произведена мутация гомологичного остатка Asn¹²¹ на остаток Ala. По мнению авторов, остаток Asn, находящийся в этом положении, вовлечен в поддержание B₁P в неактивном состоянии. В этом же исследовании было продемонстрировано вовлечение C-концевого внутриклеточного домена в конститутивную активацию B₁P человека; замена C-концевого домена B₁P на аналогичный домен B₂P приводила к почти полной потере активности рецептора [62] (рис. 3).

Передача сигнала, за которую отвечают B₁P и B₂P, главным образом зависит от их сопряжения с G α_q -белком. Эпитопы, определяющие сопряжение с G-белком в суперсемействе GPCR-рецепторов, часто локализованы в их внутриклеточных

доменах, и, по-видимому, действуют сообща, формируя связывающий участок. В последнее десятилетие в рецепторах кининов были идентифицированы аминокислотные остатки, важные для взаимодействия с G-белком и дальнейшей передачи сигнала. Было показано, что усечение С-концевой последовательности в B₂R человека вплоть до Ser³¹⁶ ослабляет, но полностью не тормозит сопряжение рецептора с Gα_q-белком [74-76]. С другой стороны, усечение выше этого аминокислотного остатка полностью уничтожает активность B₂R, что возможно приводит к разрыву α-спирали (α8), включающей аминокислотные остатки 310 – 321, которая, по-видимому, требуется для эффективного сопряжения рецептора с Gα_q-белком (рис. 3). Аминокислотные остатки, входящие в состав α8 и влияющие на сигналинг с участием G-белка, были выявлены методом точечного мутагенеза на B₂R крысы. Так, замена остатка Arg³¹¹ на Ala производила существенное увеличение G-белкового сопряжения, а замена остатка Tyr³²² на остаток Ala (Tyr³²⁰ в B₂R человека) не влияла на него [76]. С другой стороны, эта мутация полностью восстанавливала сопряжение рецептора с G-белком, которое уничтожалось при замене остатка Tyr¹³¹ (Tyr¹²⁹ в B₂R человека) входящего в состав DRY-мотива (II внутриклеточная петля). Различные дополнительные мутации аминокислотных остатков привели к выводу, что аминокислотные остатки тирозина вовлечены во взаимодействие, которое контролируется остатком Tyr¹³⁷ (Tyr¹³⁵ в B₂R человека), что является очень важным для активации сопряжения с G белком и последующей интернализации рецептора [77].

Усечение С-концевой последовательности B₁R человека показало, что этот домен не является необходимым для эффективного связывания с G-белком, приводящего к гидролизу PI, хотя аминокислотные остатки этого периферического участка довольно сильно увеличивают как конститутивную, так и агонист-индуцированную передачу сигнала [76].

3. АКТИВАЦИЯ РЕЦЕПТОРОВ КИНИНОВ ИНГИБИТОРАМИ АПФ.

О потенцировании эффектов Бк препаратами, тормозящими активность АПФ, известно давно. Ингибиторы АПФ были впервые открыты более 40 лет назад в яде змеи *Bothrops jararaca* как вещества, обладающие способностью потенцировать действие Бк [78]. Первым синтетическим ингибитором, вошедшим в клиническую практику, стал каптоприл [79]. С тех пор было синтезировано большое количество высокоэффективных иАПФ, которые наряду с каптоприлом широко применяются в клинике [80]. К настоящему времени проведено огромное количество исследований, в которых продемонстрировано успешное применение иАПФ при различных сердечно-сосудистых заболеваниях, диабете, заболеваниях почек, атеросклерозе. Многочисленные клинические данные свидетельствуют, что большой вклад в суммарный фармакологический эффект иАПФ вносит их способность потенцировать эффекты кининов (главным образом Бк) [11]. На различных экспериментальных моделях (*in vitro*, *ex vivo*, *in vivo*) показано, что иАПФ имитируют и усиливают эффекты Бк и des-Arg⁹-Бк, которые могут подавляться антагонистами B₁R и B₂R. Наблюдения, полученные с использованием клеточных моделей – культур клеток эндотелия и кардиомиоцитов, показывают, что иАПФ стимулируют образование NO и простагличина (PGI₂), что обычно наблюдается при воздействии Бк; эти эффекты подавляются антагонистом B₂R – икатибаном [51]. Таким образом, несколькими группами ученых были получены экспериментальные данные, свидетельствующие в пользу предположения о новой роли иАПФ – в качестве модуляторов рецепторов кининов.

3.1. Активация B₂R ингибиторами АПФ. В 1997 году было предпринято исследование, которое должно было ответить на вопрос, могут ли иАПФ оказывать прямое влияние на рецепторы кининов, отвечающие на молекулярном уровне за их эффекты [13]. Изучалось влияние эналаприла на связывание [Нур3-Тур(Ме)⁸]Бк, аналога Бк (устойчивого к гидролизу АПФ) с B₂R человека, экспрессирующимися культурой СНО-клеток, как в отсутствии, так и в присутствии параллельной экспрессии соматического АПФ человека. Было установлено,

что только при параллельной экспрессии B_2R и АПФ СНО-клетками эналаприл потенцирует действие Бк за счет усиления связывания Бк с B_2R , поддерживая B_2R в высокоаффинном состоянии, блокируя потерю чувствительности и снижая их интернализацию. В тоже время эналаприл был полностью неэффективен по отношению к B_2R в СНО-клетках без параллельной экспрессии АПФ. Полученные данные привели к предположению, что активация B_2R , наблюдаемая в присутствии молекул АПФ, по-видимому, связана с индукцией иАПФ перекрестного взаимодействия между АПФ и B_2R , находящимися на мембране. Другим исследователям удалось доказать существование физического взаимодействия молекул АПФ и B_2R на клеточной мембране [15, 81, 82]. Было установлено, что для активации B_2R иАПФ не требуются ни цитоплазматический, ни трансмембранный фрагменты АПФ; активация происходит, если АПФ находится в непосредственной близости от рецептора, что, возможно, приводит к образованию гетеродимера за счет внеклеточных фрагментов молекул АПФ и B_2R . Близкие результаты были получены при использовании двух ингибиторов АПФ – эналаприла и рамиприла, что указывает на группоспецифическое действие этих соединений на активацию B_2R , которое, по-видимому, не связано с их индивидуальной структурой.

Формирование комплексов АПФ- B_2R на клеточной мембране в культуре СНО-клеток позднее было подтверждено методом иммуногистохимии с использованием флуоресцентной микроскопии [83]. В качестве стимуляторов B_2R были взяты Бк и его аналог, устойчивый к действию АПФ. Было установлено, что после стимуляции Бк молекулы АПФ и B_2R , находящиеся на мембране, движутся вместе внутрь клетки. Сравнение живых и фиксированных клеток показало, что при добавлении Бк в культуральную среду вызывает индукцию молекул АПФ и B_2R на поверхности мембраны. Затем оба белка вместе интернализуются, затраченное на это время близко к таковому, затраченному на интернализацию одного стимулированного B_2R . При исследовании химер, представляющих собой молекулы АПФ “пришитые” к N-концу молекул B_2R , находящихся на мембране, оказалось, что хотя оба белка оставались активными, однако ни иАПФ, ни Бк, не активировали химерные B_2R . Судя по этим данным, для образования комплексов АПФ- B_2R и активации B_2R необходимо, чтобы каждая молекула была присоединена к мембране клетки, что является наиболее благоприятным для осуществления конформационных изменений в B_2R . Однако механизм, лежащий в основе вовлечения рецепторов в олигомеризацию, и его роль в функционировании рецепторов, сопряженных с G-белком, остается во многом неизвестной.

Ингибиторы НЭП (иНЭП), как и иАПФ, потенцируют эффекты Бк, активируя B_2R [84]. Эксперименты, проведенные на культурах СНО-клеток, экспрессирующих B_2R и НЭП или только B_2R , и IMR90-клеток (фибробласты лёгких человека), экспрессирующих B_2R , НЭП и АПФ, показали, что активация B_2R ингибитором НЭП (фосфорамидоном) наблюдается только при параллельной экспрессии на мембране молекул НЭП и B_2R . Если же к клеточным культурам, экспрессирующим только B_2R , добавляли растворимую форму НЭП, то потенцирование эффектов Бк, тестируемое по увеличению концентрации ионов Ca^{2+} , отсутствовало. Двойной ингибитор АПФ и НЭП – омапатрилат – усиливал эффект Бк в культурах клеток, параллельно экспрессирующих как B_2R вместе с АПФ, так и B_2R вместе с НЭП. Эти результаты показывают, что механизм потенцирования Бк иНЭП сходен с таковым у иАПФ. Важным является то, что омапатрилат потенцирует Бк в клетках, которые не экспрессируют АПФ. Однако при сравнении влияния эналаприла и омапатрилата на эндотелин-1-индуцированную форму гипертензии у крыс было показано, что омапатрилат не оказывал гипотензивного эффекта в отличие от эналаприла, который полностью уничтожал гипертензивное воздействие 60-минутной инфузии эндотелина-1 [85]. Введение крысам антагонистов B_2R полностью предотвращало

действие эналаприла. Этот эффект эналаприла, по-видимому, связан как с накоплением эндогенных кининов, так и с индуцированием перекрестного взаимодействия между B_2P и АПФ, как утверждается в предыдущем исследовании. Отсутствие гипотензивного влияния омапатрилата можно объяснить тем, что, являясь двойным ингибитором АПФ и НЭП, он блокирует деградацию не только Бк, но и эндотелина-1, накопление которого, по-видимому, приводит к подавлению сосудорасширяющего эффекта Бк.

В 2008 году Sabatini et al. было проведено исследование, в котором авторы изучали взаимодействие АПФ- B_2P в новом аспекте: они предположили, что образование комплексов АПФ- B_2P на клеточной мембране не только активирует B_2P , но также приводит к изменению каталитической активности АПФ [86]. Анализ каталитической активности АПФ был проведен на культуре СНО-клеток, экспрессирующих соматический АПФ и B_2P ; в качестве субстрата был использован пептид Abz-FRK(Dnp)P-OH, гидролизуемый АПФ с образованием флуоресцирующего продукта. Результаты показали, что параллельная экспрессия АПФ и B_2P приводит к увеличению каталитической активности АПФ. Этот эффект блокировался антагонистом B_2P икатибантом. Исследования были проведены также на клетках эндотелия, выделенных из легких мышей двух линий – нормальных, экспрессирующих АПФ и B_2P , и мышей, лишенных B_2P -гена. Как и в предыдущих опытах, активность АПФ в эндотелии была значительно выше у мышей, экспрессирующих B_2P , а её снижение наблюдалось при блокаде B_2P икатибантом. Икатибант не влиял на уровень активности АПФ клеток эндотелия, не экспрессирующих B_2P . Основываясь на этих данных можно заключить, что связывание икатибанта с B_2P препятствует их взаимодействию с АПФ, что подтверждает гипотезу о взаимном функциональном влиянии этих белков. Авторы предполагают, что в тканях, экспрессирующих АПФ и B_2P , их взаимное влияние может играть роль в контроле уровней Бк и АП, пептидов, противоположных по своему физиологическому действию в организме, и в некоторых случаях стимуляции B_2P может иметь такое негативное следствие, как потенцирование эффектов АП.

3.2. Активация B_1P ингибиторами АПФ. В 2002 году впервые было продемонстрировано, что хроническое введение иАПФ нормотензивным крысам и мышам вызывает индукцию B_1P за счет увеличения их экспрессии в почках и эндотелии сосудов, но не изменяет экспрессию B_2P [87]. В эксперименте на мышях, лишенных гена B_2P , было показано, что индукция B_1P под влиянием иАПФ не зависит от экспрессии B_2P . Почти одновременно другой группой исследователей был предложен механизм активации B_1P иАПФ [45, 88]. При сравнении аминокислотных последовательностей B_1P и B_2P со структурой АПФ человека, во второй внеклеточной петле B_1P (в отличие от B_2P) был выявлен Zn-связывающий мотив – HEAWN (195 - 199 остатки), с которым, как предположили авторы, могут непосредственно связываться иАПФ (рис. 3). Подобный Zn-связывающий мотив – HEXXH – характерен для Zn-зависимых металлопротеиназ, и, в том числе, представлен в каждом из активных центров N- и C-доменов молекулы АПФ [89]. Эксперименты, проведенные на клеточных линиях IMR90 (экспрессирующих B_1P , B_2P и АПФ), СНО (экспрессирующих B_1P) и ВРАЕ (клетки эндотелия лёгочной артерии быка) показали, что эналаприл и другие иАПФ (каптоприл и рамиприл) в наномолярных концентрациях активируют B_1P человека, как в присутствии молекул АПФ, так и в присутствии агониста B_2P des-Arg¹⁰-Lys¹-Бк. Подтверждение основной роли Zn-связывающего участка B_1P во взаимодействии с иАПФ было получено в эксперименте по замене аминокислотного остатка His¹⁹⁵ на остаток Ala. Эта мутация препятствовала активации B_1P эналаприлом, однако не влияла на активацию B_1P агонистом des-Arg¹⁰-Lys¹-Бк. Кроме того, активация B_1P эналаприлом блокировалась Ca-EDTA, ингибитором Zn-зависимых металлопротеиназ. Полученные данные были подтверждены в эксперименте с синтетическим пептидом LLPHEAWNHAR

ИНГИБИТОРЫ АПФ – АКТИВАТОРЫ РЕЦЕПТОРОВ КИНИНОВ

(аминокислотные остатки Б₁Р 192 - 202), который терял способность связываться с эналаприлом в присутствии Са-EDTA. Таким образом, наличие последовательности HEAWN во второй внеклеточной петле Б₁Р является необходимым условием для прямого воздействия эналаприла на рецептор, и не влияет на взаимодействие Б₁Р с агонистом des-Arg¹⁰-Lys¹.

Сравнительное изучение других иАПФ на активность Б₁Р в ВРАЕ-клетках показало, что лизиноприл, в отличие от эналаприла, каптоприла и рамиприла не активирует Б₁Р. Хотя структурно лизиноприл очень близок к эналаприлу, однако у лизиноприла в позиции Р¹ находится боковая цепь лизина -(CH₂)₄-NH₂. У эналаприла и большинства других ингибиторов АПФ в этой позиции имеется лишь одна -CH₃ группа. По-видимому, именно наличие большого положительно заряженного заместителя в положении Р¹ может объяснить, почему лизиноприл не активирует Б₁Р; эта углеродная цепь может закрывать доступ к цинк-связывающему участку рецептора, и кроме того, её положительный заряд может способствовать отталкиванию молекулы лизиноприла от положительного заряженного рецептора [90] (рис. 4).

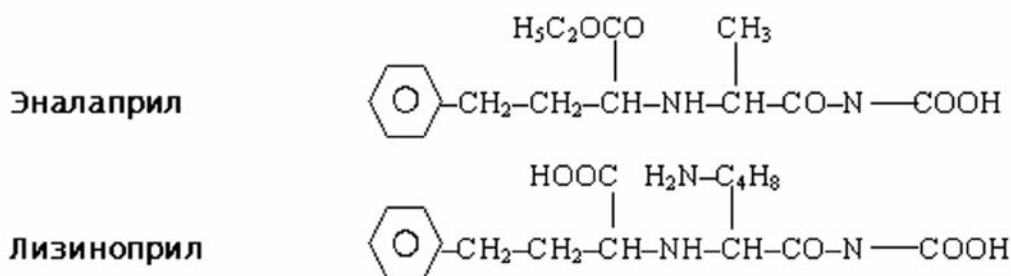


Рисунок 4.
Структура синтетических ингибиторов АПФ.

На основании данных о способности иАПФ активировать Б₁Р независимо от эндогенных кининов, было выдвинуто предположение, что освобождение NO при активации Б₁Р этими соединениями, может осуществляться ими за счёт различных механизмов [91]. Для сравнения были использованы две клеточные линии, одна из которых (ВРАЕ) экспрессировала Б₁Р и eNOS (эндотелиальную NO-синтазу), а другая (HLMVE – клетки эндотелия лёгких человека, обработанные цитокинами) экспрессировала Б₁Р и iNOS (индуцибельную NO-синтазу), что имитировало патологические условия организма, возникающие в результате воспаления, ишемии, атеросклероза, травмы и др. [35, 92]. Исследование показало, в ВРАЕ-клетках эналаприл и des-Arg¹⁰-Lys¹-Бк стимулируют освобождение NO, активируя eNOS различными путями, которые связаны с вовлечением различных вторичных мессенжеров, а также запускают различные механизмы накопления внутриклеточного Ca²⁺. Так, des-Arg¹⁰-Lys¹-Бк вызывал увеличение гидролиза PI и накопление ионов Ca²⁺ внутри клеток, что приводило к активации eNOS и освобождению NO. В противоположность этому, эналаприл не влиял на гидролиз PI и стимулировал освобождение NO в большой степени вне зависимости от накопления ионов Ca²⁺ внутри клеток. При активации Б₁Р эналаприлом наблюдаемый прирост ионов Ca²⁺ внутри клеток был связан с их поступлением из среды, в то время как des-Arg¹⁰-Lys¹-Бк стимулировал освобождение ионов Ca²⁺ в цитоплазму из внутренних структур клеток, вероятно за счет активации IP₃ (инозитол-3-фосфат)-рецептора эндоплазматического ретикулума. В пользу гипотезы о сопряжении Б₁Р с различными G-белками при взаимодействии

с эналаприлом и Des-Arg¹⁰-Lys¹-Бк свидетельствовало то, что все эффекты эналаприла селективно блокировались холерным токсином или ингибиторами протеинкиназы С (PKC), в то время как ни одно из этих соединений не влияло на эффекты, индуцированные des-Arg¹⁰-Lys¹-Бк. Можно предположить, что эффекты эналаприла передаются через Gs-белок, чувствительный к холерному токсину и зависят от активации PKC, которая может регулировать потенциал-зависимые катионные каналы суперсемейства TRP (Transient Receptor Potential) [93], в то время как des-Arg¹⁰-Lys¹-Бк и другие пептидные лиганды стимулируют сопряжение B₁P с Gα_{q/11}-белком с последующей активацией PLC.

В противоположность ВРАЕ-клеткам, в цитокин-стимулированных HLMVE-клетках оба соединения активировали iNOS и стимулировали освобождение NO сходным Ca²⁺-независимым путем, связанным с увеличением транспорта аргинина внутрь клеток. Захват аргинина HLMVE-клетками увеличивался в три раза в присутствии des-Arg¹⁰-Lys¹-Бк и эналаприла, в то время как конкурентный ингибитор транспорта аргинина (лизин) полностью блокировал этот эффект в обоих случаях. Под влиянием des-Arg¹⁰-Lys¹-Бк и эналаприла в HLMVE-клетках наблюдалось пролонгирование освобождения NO, которое в обоих случаях почти полностью блокировалось специфическим антагонистом B₁P (des-Arg¹⁰-Leu⁹-Lys¹-Бк) [91].

Недавно были опубликованы данные исследования, в котором был предложен один из возможных механизмов влияния иАПФ на процесс активации iNOS. Было показано, что активация iNOS при воздействии иАПФ на клетки связана с активацией ERK (регулируемой внеклеточными сигналами киназы), приводящей к фосфорилированию аминокислотного остатка Ser⁷⁴⁵ в iNOS [94]. Этот эффект воспроизводился при трансфекции клеток фосфо-имитирующим мутантом iNOS-Ser⁷⁴⁵Asp и блокировался при трансфекции мутантом iNOS-Ser⁷⁴⁵Ala, который не может подвергаться фосфорилированию. Такое рецептор-зависимое ERK-фосфорилирование и активация iNOS при участии иАПФ можно рассматривать, как новое звено комплексной регуляции активности этого фермента, которое, по-видимому, может играть важную роль в процессе воспаления.

4. УЧАСТИЕ B₁P И B₂P В ТЕРАПЕВТИЧЕСКИХ ЭФФЕКТАХ ИНГИБИТОРОВ АПФ.

Десять лет назад было показано, что в потенцировании эффектов Бк под воздействием иАПФ существенное значение имеет активация B₂P [13-15]. Однако в последние годы при исследовании влияния иАПФ на индукцию B₁P и B₂P в различных органах и тканях, как при нормальных, так и патологических состояниях организма, было показано, что B₁P играют значительную роль в терапевтических эффектах иАПФ. Увеличение экспрессии B₁P в почках и эндотелии сосудов при хроническом введении иАПФ отмечалось у нормотензивных крыс и мышей [87]. Индукция B₁P и B₂P под влиянием иАПФ наблюдалась в изолированном нефроне почки крыс с инсулин-зависимой формой диабета [95].

В экспериментах на крысах со спонтанной гипертензией (SHR) было показано, что изменение количества B₁P и B₂P в спинном мозге связано не только с приёмом иАПФ, но также с возрастом животных (который положительно коррелируется со стадией развития гипертензии). Так, после длительной антигипертензивной терапии иАПФ у молодых SHR-крыс количество B₁P увеличивалось, а B₂P снижалось, в то время как у взрослых SHR-крыс увеличивалось количество B₂P и не изменялось количество B₁P [96].

Вовлечение B₁P и B₂P в кардиопротективное воздействие иАПФ было изучено на модели острого экспериментального инфаркта миокарда у мышей, как нормальных, так и лишенных генов B₁P или B₂P. Анализ экспрессии генов B₁P и B₂P в сердце показал, что при отсутствии одного из рецепторов, экспрессия другого возрастает, однако полноценная кардиопротекция достигается только при участии рецепторов кининов обоих типов [97].

Участие рецепторов кининов в процессе ангиогенеза было показано *in vitro* на сердцах нормальных мышей и мышей, лишенных гена B_2R . В нормальных условиях эналаприл индуцировал образование сосудов, активируя оба типа кининовых рецепторов, а в условиях гипоксии усиление ангиогенеза происходило за счет индукции B_2R [98].

Роль кининов и их рецепторов в положительном терапевтическом воздействии иАПФ становится все более очевидной благодаря исследованиям последних лет. Однако с экспрессией рецепторов кининов могут быть связаны и нежелательные побочные эффекты, возникающие на фоне применения иАПФ. Один из них, возникающий при хроническом применении иАПФ, – сухой кашель. Участие B_2R в усилении кашля (индуцированного вдыханием стимулирующих агентов) на фоне приема иАПФ было продемонстрировано на морских свинках, у которых антагонист B_2R (икатибант) подавлял развитие кашля [99, 100]. Позднее было продемонстрировано вовлечение B_1R в возникновении кашля, спонтанно развивающегося на фоне хронического приема иАПФ (эналаприла) [101]. Нарастание кашля тормозилось при применении антагониста B_1R (des-Arg¹⁰-Leu⁹-Lys¹-Бк), но не антагониста B_2R (икатибанта). При исследовании специфического связывания агонистов B_1R и B_2R с мембранными фракциями дыхательных путей морских свинок, взятыми через 1–30 дней от начала приёма эналаприла, была выявлена положительная корреляция между частотой кашля и активацией B_1R (но не B_2R).

Участие B_1R было продемонстрировано в развитии отёка у пациентов с гипертензией на фоне приема иАПФ [102]. Ранее возникновение отека связывали с накоплением в организме Бк, деградация которого снижается при торможении активности АПФ ингибиторами [103, 104]. Однако сравнительный анализ метаболизма агонистов B_1R и B_2R (des-Arg¹⁰-Lys¹-Бк и Бк соответственно) в плазме двух групп пациентов с отёком и без него, принимающих иАПФ, показал, что при отёке наблюдается накопление des-Arg¹⁰-Lys¹-Бк, в то время как существенной разницы в накоплении Бк между двумя группами пациентов нет [102]. Анализ мРНК генов B_1R и B_2R в тканях свиньи, которые обычно вовлекаются в клинические формы отёка, показал, что после семидневного введения иАПФ в них происходит увеличение экспрессии обоих типов рецепторов кининов [105]. Обнаружение повышенной экспрессии B_1R и B_2R свидетельствует об их вовлечении в развитие иАПФ-индуцированного отёка.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ. Ингибиторы АПФ широко используются в клинике при лечении различных заболеваний сердечно-сосудистой системы, почек, диабета. В последние годы был установлен неизвестный ранее кинин-зависимый механизм действия иАПФ, который связан с влиянием иАПФ на рецепторы кининов. Было показано, что иАПФ потенцируют Бк не только блокируя его инактивацию, но и вызывая активацию рецепторов брадикинина.

Действие кининов в организме реализуется в результате взаимодействия с рецепторами двух типов: B_1R и B_2R . На многих типах клеток конститутивно экспрессированы B_2R , отвечающие за реализацию основных фармакологических эффектов Бк – бронхоспазм, гипотензию, острые воспалительные реакции, формирование отёка, боль. B_1R при физиологических условиях определяются слабо, но главным образом экспрессируются при патологических состояниях организма. По своей структуре B_1R и B_2R характеризуются наличием семи трансмембранных доменов, трёх внутриклеточных и трёх внеклеточных полипептидных петель. Гомология аминокислотной последовательности в области трансмембранных участков составляет примерно 35%. Выявлены аминокислотные остатки, ответственные за активацию рецепторов. В присутствии иАПФ наблюдается активация B_2R , обусловленная перекрестным взаимодействием между молекулами АПФ и B_2R , находящимися на плазматической мембране клетки в непосредственной близости, и возможного образования гетеродимера. Активация B_1R происходит за счет связывания иАПФ с Zn-связывающим мотивом HEAWN,

находящимся в структуре Б₁Р. В ряде исследований было продемонстрировано, что в общий положительный терапевтический эффект иАПФ вовлечены кининовые рецепторы обоих типов. Однако нежелательные побочные эффекты, возникающие на фоне применения иАПФ, могут быть связаны в большей мере с экспрессией Б₁Р.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Erdös E.G.* (1979) in: Handbook of Experimental Pharmacology, **25**, S5, pp. 438-487.
2. *Soffer R.L.* (1989) in: Biochemical Regulation of Blood Pressure (Soffer R.L., ed.) John Wiley & Sons, New York, pp.123-164.
3. *Елисеева Ю.Е.* (1993) Успехи биол. химии, **33**, 106-129.
4. *Azizi M., Rousseau A., Ezan E., Guyene T., Michelet S., Grognet J., Lenfant M., Corvol P., Ménard J.* (1996) J. Clin. Invest., **97**, 839-844.
5. *Todd P., Heel R.* (1986) Drugs, **31**, 198-248.
6. *Мареєв В.Ю.* (1994) Кардиология, **34**, № 12, 4-11.
7. *Pitt B.* (2000) Clin. Cardiol., **23**, Suppl. 4, IV9-14.
8. *Yusuf S., Sleight P., Pogue J., Bosch J., Davies R., Dagenais G.* (2000) N. Engl. J. Med., **342**, 145-153.
9. *Linz W., Wiemer G., Gohlke P., Unger T., Shoelkens B.A.* (1995) Pharmacol. Rev., **47**, 25-49.
10. *Marceau F.* (1997) Can. J. Cardiol., **13**, 187-194.
11. *Gainer J., Morrow J., Loveland A., King D., Brown N.* (1998) N. Engl. J. Med., **339**, 1285-1292.
12. *Squire I., O'Kane K., Anderson N., Reid J.* (2000) Hypertension, **36**, 132-136.
13. *Minshall R., Tan F., Nakamura F., Rabito S., Becker R., Marcic B., Erdos E.* (1997) Circ. Res., **81**, 848-856.
14. *Erdos E., Deddish P., Marcic B.* (1999) Trends Endocrinol. Metab., **10**, 223-229.
15. *Marcic B., Deddish P., Skidgel R., Erdos E., Minshall R., Tan F.* (2000) J. Biol. Chem., **275**, 16110-16118.
16. *Bhoola K., Figueroa C., Worthy K.* (1992) Pharmacol. Rev., **44**, 1-80.
17. *Schmaier A.* (2004) Thromb. Haemost., **91**, 1-3.
18. *Muller-Estrel W.* (1989) Thromb. Haemost., **61**, 2-6.
19. *Regoli D., Barabe J.* (1980) Pharmacol. Rev., **32**, 1-46.
20. *Marceau F., Hess J., Bachvarov D.* (1998) Pharmacol. Rev., **50**, 357-386.
21. *Proud D., Baumgarten C., Nacelero R., Ward P.* (1987) J. Immunol., **138**, 428-434.
22. *Sheik I., Kaplan A.* (1989) Biochem. Pharmacol., **38**, 993-1000.
23. *Erdos E.* (1990) J. Cardiovasc. Pharmacol., **15**, Suppl 6, S20-S24.
24. *Erdos E., Skidgel R.* (1997) in: The Kinin System (Farmer S. ed.) Academic Press, San Diego, pp. 111-141.
25. *Oshima G., Hiraga Y., Shirono K., Oh-ishi S., Sakakibara S., Kinoshita T.* (1985) Experientia, **41**, 325-328.
26. *Zolfaghari R., Little D., Baker C., Canizaro P.C., Behal F.* (1989) Enzyme, **42**, 160-173.
27. *Blais C., Drapeau G., Raymond P., Lamontagne D., Gervais N., Venneman I., Adam A.* (1997) Am. J. Physiol., **273**, H2263-H2271.
28. *Drapeau G., Chow A., Ward P.E.* (1991) Peptides, **12**, 631-638.
29. *Pelorosso F., Brodsky P., Zold C., Rothlin R.* (2005) J. Pharmacol. Exp. Ther., **313**, 1355-1360.
30. *Regoli D., Nsa Allogho S., Rizzi A., Gobeil F.* (1998) Eur. J. Pharmacol., **348**, 1-10.
31. *Hall J., Morton I.* (1997) in: The Kinin System. (Farmer S.G., ed.) Academic Press, London, pp. 9-43
32. *Dray A., Perkins M.* (1993) Trends Neurosci., **16**, 99-104.
33. *Ellis K., Fozard J.* (2002) Auton. Autacoid. Pharmacol., **22**, 3-16.

34. *Leeb-Lundberg L., Marceau F., Müller-Esterl W., Pettibone D., Zuraw B.* (2005) *Pharmacol. Rev.*, **57**, 27-77.
35. *McLean P., Ahluwalia A., Perretti M.* (2000) *J. Exp. Med.*, **192**, 367-380.
36. *Barnes P., Chung K., Page C.* (1998) *Pharmacol. Rev.*, **50**, 515-596.
37. *Vavrek R., Stewart J.* (1985) *Peptides*, **6**, 161-164.
38. *Hock F., Wirth K., Albus U., Linz W., Gerhards H., Wiemer G., Henke St., Breipohl G., König W., Knolle J., Schölkens B.* (1991) *Br. J. Pharmacol.*, **102**, 769-773.
39. *Houle S., Larrivée J., Bachvarova M., Bouthillier J., Bachvarov D., Marceau F.* (2000) *Hypertension*, **35**, 1319-1325.
40. *Moreau M.E., Garbacki N., Molinaro G., Brown N.J., Marceau F., Adam A.* (2005) *J. Pharmacol. Sci.*, **99**, 36-38.
41. *McEachern A., Shelton E., Bhakta S., Obernolte R., Bach C., Zuppan P., Fujisaki J., Aldrich R., Jarnagin K.* (1991) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **88**, 7724-7728.
42. *Hess J., Borkowski J., Young G., Strader C., Ransom R.* (1992) *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **184**, 260-268.
43. *Menke J., Bierilo K., MacNiel T., Derrick A., Schneck K., Ransom R., Strader C., Linemeyer D., Hess J.* (1994) *J. Biol. Chem.*, **269**, 21583-21586.
44. *Fredriksson R., Lagerström M., Lundin L., Schiöth H.* (2003) *Mol. Pharmacol.*, **63**, 1256-1272.
45. *Ignjatovic T., Tan F., Brovkovich V., Skidgel R., Erdos E.* (2002) *J. Biol. Chem.*, **277**, 16847-16852.
46. *MacNeil T., Bierilo K., Menke J., Hess J.* (1995) *Biochim. Biophys. Acta*, **1264**, 223-228.
47. *Pesquero J., Pesquero J., Oliveira S., Roscher A., Metzger R., Ganten D., Bader M.* (1996) *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **220**, 219-225.
48. *Pesquero J., Lindsey C., Paiva A., Ganten D., Bader M.* (1996) *Immunopharmacology*, **33**, 36-41.
49. *Kang D., Gustafsson C., Morgelin M., Leeb-Lundberg L.* (2005) *Mol. Pharmacol.*, **67**, 309-318.
50. *Ostrom R.* (2002) *Mol. Pharmacol.*, **61**, 473-476.
51. *Perez M., Molinaro G., Adam A.* (2001) *J. Clin. Basic. Cardiol.*, **4**, 39-46.
52. *Leeb T., Mathis S., Leeb-Lundberg L.* (1997) *J. Biol. Chem.*, **272**, 311-317.
53. *Fathy D., Mathis S., Leeb T., Leeb-Lundberg L.* (1998) *J. Biol. Chem.*, **273**, 12210-12218.
54. *Leeb-Lundberg L., Mathis S., Herzig M.* (1994) *J. Biol. Chem.*, **269**, 25970-25973.
55. *Fathy D., Leeb T., Mathis S., Leeb-Lundberg L.* (1999) *J. Biol. Chem.*, **274**, 29603-29606.
56. *Marie J., Koch C., Pruneau D., Paquet J., Groblewski T., Languier R., Lombard C., Deslauriers B., Maigret B., Bonnafous J.C.* (1999) *Mol. Pharmacol.*, **55**, 92-101.
57. *Quitterer U., Abdalla S., Jarnagin K., Müller-Esterl W.* (1996) *Biochemistry*, **35**, 13368-13377.
58. *Marie J., Richard E., Pruneau D., Paquet J., Siatka C., Languier R., Poncé C., Vassault P., Groblewski T., Maigret B., Bonnafous J.* (2001) *J. Biol. Chem.*, **276**, 41100-41111.
59. *Nardone J., Hogan P.* (1994) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **91**, 4417-4421.
60. *Jarnagin K., Bhakta S., Zuppan P., Yee C., Ho T., Phan T., Tahiramani R., Pease J., Miller A., Freedman R.* (1996) *J. Biol. Chem.*, **271**, 28277-28286.
61. *Bellucci F., Meini S., Cucchi P., Catalani C., Reichert W., Zappitelli S., Rotondaro L., Quartara L., Giolitti A., Maggi C.* (2003) *Br. J. Pharmacol.*, **140**, 500-506.
62. *Leeb-Lundberg L., Kang D., Lamb M., Fathy D.* (2001) *J. Biol. Chem.*, **276**, 8785-8792.
63. *Ni A., Yin H., Agata J., Yang Z., Chao L., Chao J.* (2003) *J. Biol. Chem.*, **278**, 219-225.

64. Baldwin J., Schertler G., Unger V. (1997) *J. Mol. Biol.*, **272**, 144-164.
65. Scheer A., Fanelli F., Costa T., De Benedetti P., Cotecchia S. (1996) *EMBO J.*, **15**, 3566-3578.
66. Scheer A., Fanelli F., Costa T., De Benedetti P., Cotecchia S. (1997) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **94**, 808-813.
67. Rasmussen S., Jensen A., Liapakis G., Ghanouni P., Javitch J., Gether U. (1999) *Mol. Pharmacol.*, **56**, 175-184.
68. Morin D., Cotte N., Balestre M., Mouillac B., Manning M., Breton C., Barberis C. (1998) *FEBS Lett.*, **441**, 470-475.
69. Fraser C., Chung F., Wang C., Venter J. (1988) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **85**, 5478-5482.
70. Savarese T., Fraser C. (1992) *Biochem. J.*, **283**, (Pt1), 1-19.
71. Perez D., Hwa J., Gaivin R., Mathur M., Brown F., Graham R. (1996) *Mol. Pharmacol.*, **49**, 112-122.
72. Zuscik M., Porter J., Gaivin R., Perez D. (1998) *J. Biol. Chem.*, **273**, 3401-3407.
73. Groblewski T., Maigret B., Languier R., Lombard C., Bonnafous J., Marie J. (1997) *J. Biol. Chem.*, **272**, 1822-1826.
74. Prado G., Taylor L., Polgar P. (1997) *J. Biol. Chem.*, **272**, 14638-14642.
75. Pizard A., Blaukat A., Müller-Esterl W., Alhenc-Gelas F., Rajerison R. (1999) *J. Biol. Chem.*, **274**, 12738-12747.
76. Kang D., Leeb-Lundberg L. (2002) *Mol. Pharmacol.*, **62**, 281-288.
77. Prado G., Mierke D., Pellegrini M., Taylor L., Polgar P. (1998) *J. Biol. Chem.*, **273**, 33548-33555.
78. Ferreira S. (1965) *Br. J. Pharmacol.*, **24**, 163-169.
79. Ondetti M., Cushman D. (1982) *A. Rev. Biochem.*, **51**, 283-308.
80. Hernandez A., Harrington R. (2008) *CMAJ*, **178**, 1316-1319.
81. Erdős E., Deddish P., Marcic B. (1999) *Trends Endocrinol. Metab.*, **10**, 223-229.
82. Marcic B., Deddish P., Jackman H., Erdős E., Tan F. (2000) *Hypertension*, **36**, 116-121.
83. Chen Z., Deddish P., Minshall R., Becker R., Erdős E., Tan F. (2006) *FASEB J.*, **20**, 2261-2270.
84. Deddish P., Marcic B., Tan F., Jackman H., Chen Z., Erdős E. (2002) *Hypertension*, **39**, 619-623.
85. Elmarakby A., Morsing P., Pollock D. (2003) *Am. J. Physiol. Heart. Circ. Physiol.*, **284**, H1899-H1903.
86. Sabatini R., Guimarães P., Fernandes L., Reis F., Bersanetti P., Mori M., Navarro A., Hilzendeger A., Santos E., Andrade M., Chagas J., Pesquero J., Casarini D., Bader M., Carmona A., Pesquero J. (2008) *Hypertension*, **51**, 689-695.
87. Marin-Castano M., Schanstra J., Neau E., Praddaude F., Pecher C., Ader J., Girolami J., Bascands J. (2002) *Circulation*, **105**, 627-632.
88. Ignjatovic T., Tan F., Brovkovich V., Skidgel R., Erdős E. (2002) *Int. Immunopharmacol.*, **2**, 1787-1793.
89. Hooper N. (1994) *FEBS Lett.*, **354**, 1-6.
90. Menard J., Patchett A. (2001) *Adv. Protein Chem.*, **56**, 13-75.
91. Ignjatovic T., Stanisavljevic S., Brovkovich V., Skidgel R., Erdős E. (2004) *Mol. Pharmacol.*, **66**, 1310-1316.
92. Duka I., Kintsurashvili E., Gavras I., Johns C., Bresnahan M., Gavras H. (2001) *Circ. Res.*, **88**, 275-281.
93. Nilius B., Droogmans G., Wondergem R. (2003) *Endothelium*, **10**, 5-15.
94. Zhang Y., Brovkovich V., Brovkovich S., Tan F., Lee B., Sharma T., Skidgel R. (2007) *J. Biol. Chem.*, **282**, 32453-32461.
95. Mage M., Pecher C., Neau E., Cellier E., Dos Reiss M., Schanstra J., Couture R., Bascands J., Girolami J. (2002) *Can. J. Physiol. Pharmacol.*, **80**, 328-333.
96. Ongali B., Buck Hde S., Cloutier F., Legault F., Regoli D., Lambert C., Thibault G., Couture R. (2003) *Am. J. Physiol. Heart. Circ. Physiol.*, **284**, H1949-H1958.

ИНГИБИТОРЫ АПФ – АКТИВАТОРЫ РЕЦЕПТОРОВ КИНИНОВ

97. *Duka A., Kintsurashvili E., Duka I., Ona D., Hopkins T., Bader M., Gavras I., Gavras H.* (2008) *Hypertension*, **51**, 1352-1357.
98. *Sanchez de Miguel L., Neysari S., Jakob S., Petrimpol M., Butz N., Banfi A., Zaugg C., Humar R., Battegay E.* (2008) *Cardiovasc. Res.*, **80**, 106-113.
99. *Takahama K., Araki T., Fuchikami J., Kohjimoto Y., Miyata T.* (1996) *J. Pharm. Pharmacol.*, Oct; 48(10), 1027-1033.
100. *Fox A., Laloo U., Belvisi M., Bernareggi M., Chung K., Barnes P.* (1996) *Nat. Med.*, **2**, 814-817.
101. *Hirata R., Nabe T., Kohno S.* (2003) *Eur. J. Pharmacol.*, **474**, 255-260.
102. *Molinaro G., Cugno M., Perez M., Lepage Y., Gervais N., Agostoni A., Adam A.* (2002) *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, **303**, 232-237.
103. *Israili Z., Hall W.* (1992) *Ann. Intern. Med.*, **117**, 234-242.
104. *Nussberger J., Cugno M., Amstutz C., Cicardi M., Pellacani A., Agostoni A.* (1998) *Lancet*, **351**, 1693-1697.
105. *Moreau M., Dubreuil P., Molinaro G., Chagnon M., Müller-Esterl W., Lepage Y., Marceau F., Adam A.* (2005) *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, **315**, 1065-1074.

Поступила: 01. 12. 2009.

ACE INHIBITORS – ACTIVATORS OF KININ RECEPTORS

E.V. Kugaevskaya, Yu.E. Elisseeva

Institute of Biomedical Chemistry, Russian Academy of Medical Sciences (RAMS),
ul. Pogodinskaya, 10, Moscow, 119992 Russia; tel.: (499) 246 50 72; fax: (499) 245-0857;
e-mail: Elena.Kugaevskaya@ibmc.msk.ru

Angiotensin converting enzyme (ACE) inhibitors are widely used for treatment of cardiovascular diseases. The effects of ACE inhibitors on the human bradykinin receptors were investigated. The mode of action of ACE inhibitors is considered. There is evidence that ACE inhibitors exert effects on the vascular system that cannot be attributed simply to the inhibition of ACE activity and accumulation of locally produced bradykinin. ACE inhibitors augment bradykinin effects on receptors indirectly by inducing cross-talk between ACE and the B₂ receptor when enzyme and receptor molecules are sterically close, possibly forming a heterodimer. ACE inhibitors activate B₁ receptors directly and independently of ACE via the zink-binding consensus sequence HEXXH, which is present in B₁, but not in B₂ receptor. Particular structure of B₂ and B₁ are represented, as well as receptor amino acids coupled with the G-proteins. Activation of kinin receptors by ACE inhibitors leads to clinically beneficial effects of ACE inhibitors.

Key words: kinin receptors, angiotensin converting enzyme inhibitors, cardiovascular protection.