

УДК 612.065.1:517.162

© Коллектив авторов

ВЛИЯНИЕ ЦИТОХРОМ Р450-ЗАВИСИМЫХ МЕТАБОЛИТОВ АРАХИДОНОВОЙ КИСЛОТЫ НА ФУНКЦИОНАЛЬНОЕ СОСТОЯНИЕ СОСУДОВ.

**КРЖЕЧКОВСКАЯ В.В., НЕБОЛЬСИН В.Е., ЖЕЛТУХИНА Г.А.,
ЕВСТИГНЕЕВА Р.П., РУБЦОВА Е.Р.**

Московская Государственная Академия Тонких Химических технологий
им. М.В. Ломоносова

В обзоре обобщены сведения о роли метаболитов арахидоновой кислоты, образующихся в системе цитохрома Р450, в регуляции тонуса кровеносных сосудов. Метаболиты арахидоновой кислоты являются внутриклеточными мессенджерами, а также осуществляют взаимосвязь между эндотелиальными и гладкомышечными клетками сосудистой клетки. Их действие осуществляется на уровне регуляции активности ионных каналов наружной мембраны клеток. Отмечается значение производных арахидоновой кислоты в развитии гипертензии.

Ключевые слова: метаболиты арахидоновой кислоты, цитохром Р450, функциональное состояние сосудов

Система ферментов, связанная с цитохромом Р450, занимает ключевое положение в метаболизме многих эндогенных и экзогенных веществ, определяющих функциональное состояние клеток организма. Данные, полученные за последние десять лет, свидетельствуют о непосредственном влиянии биологически активных веществ, синтезированных при участии этих ферментов, в модуляции активности клеток печени, легких, почек и других органов.

Регуляция сосудистого тонуса в организме имеет многоуровневый характер (нервный - центральный и периферический, эндокринный и т.д.), что обеспечивает высокую степень надежности этого процесса. Однако, анализируя распространенность заболеваний, связанных с нарушением функционального состояния сосудов, трудно завязать число пациентов, страдающих ими. Поэтому исследования, в которых рассматриваются механизмы, связанные с нарушением тонуса сосудов, всегда привлекают пристальное внимание.

Среди факторов, регулирующих функциональное состояние сосудов, особое место занимают метаболиты арахидоновой кислоты (АА), образующиеся в системе цитохрома Р450. Они синтезируются в гладкомышечных и эндотелиальных клетках сосудов, а также в клетках других органов, главным образом в печени, разносятся по организму с кровью и поглощаются клетками сосудов [1]. Таким образом, производные АА могут быть эндогенными и экзогенными метаболитами по отношению к этим клеткам.

В настоящее время в клетках сосудистой стенки выявлено образование двух

основных групп метаболитов АА: эпоксиэйкозатриеновых кислот (ЕЕТ) и гидроксиэйкозатетраеновых кислот (НЕТЕ), которые обладают различной и часто разнонаправленной активностью.

В клетках крупных сосудов различных животных, в частности в эндотелиальных клетках аорты кролика, монооксигеназными метаболитами АА являются 5,6-, 8,9-, 11,12- и 14,15-ЕЕТ и 20-НЕТЕ [2, 3, 4, 5]. Селективный ингибитор изоформы цитохрома P45011B1 метирапон [6], блокирует образование этих соединений в клетках аорты кролика. Это является прямым подтверждением того факта, что синтез данных производных АА осуществляется оксигеназами со смешанной функцией.

В гомогенате микрососудов мозга мыши наблюдается образование 12-НЕТЕ. Так как синтез этого соединения снижается в присутствии ингибиторов системы цитохрома P450 - метирапона и клотримазола, можно сделать вывод о том, что образование 12-НЕТЕ происходит в этой системе ферментов [7].

Возможно, что именно одна из ЕЕТ или их совокупность является эндотелиальным фактором гиперполяризации мембран (EDHF), который опосредует эффекты вазоактивных гормонов [3]. Показано, что EDHF образуется в клетках сосудистой стенки при участии цитохрома P4501A [8]. В подтверждение того, что именно ЕЕТ является данным фактором, говорит тот факт, что эти метаболиты АА выполняют функцию химических мессенджеров между эндотелиальными и гладкомышечными клетками сосудов и вызывают гиперполяризацию мембран гладкомышечных клеток сосудов. Это приводит к расслаблению гладких мышц и расширению сосудов [4, 9, 10]. Этот эффект ЕЕТ, по-видимому, связан со способностью этих соединений активировать кальций-зависимые калиевые каналы и повышать концентрацию ионов кальция в клетке [4, 11]. К этому результату приводит довольно длинная цепочка событий. Так действие 11,12-ЕЕТ проявляется только в присутствии фосфорилированных нуклеотидов - аденозинтрифосфата (АТФ) и гуанозинтрифосфата (ГТФ) и опосредуется регуляторными G_s-белками [12].

В клетках мышц сосудов обнаружены такие метаболиты АА как дигидроксигексадекадиеновые кислоты (DHND). DHND вызывают расширение сосудов, по выраженности сходное с действием ЕЕТ [13].

Известно, что из ЕЕТ в системе цитохрома P450 образуются производные как 8,9-, 11,12-, и 14,15-дигидроксиэйкозатриеновые кислоты (DHET). Они были обнаружены при анализе состава фосфатидилхолина и фосфатидилинозита эндотелиальных клеток сосудов. Очевидно, DHET встраиваются в фосфолипиды либо сразу после их образования из ЕЕТ в клетках сосудов, либо после выхода из клеток других органов и повторного поглощения.

Таким образом, в эндотелиальных и гладкомышечных клетках крупных сосудов происходит и метаболизм АА и поглощение из жидкостей организма производных АА, синтезированных в клетках других органов. Встраиваясь в фосфолипиды мембран клеток сосудов, они независимо от места их образования способны оказывать длительный эффект на функциональное состояние сосудов.

Метаболиты АА другой группы - НЕТЕ, обладают преимущественно сосудосуживающим эффектом. При участии цитохрома P4501VA в клетках гладких мышц сосудов происходит синтез 20-НЕТЕ, механизм действия которой разнообразен. 20-НЕТЕ влияет на проведение нервного импульса, открытие кальций-зависимых калиевых каналов и деполяризацию мембран клеток, а также выступает в роли вторичного внутриклеточного мессенджера при передаче нервного сигнала гладкомышечным клеткам и поддержании сосудистого тонуса, регулируя давление крови в сосудах [2,3].

Аналогичные результаты получены и другими авторами при изучении влияния 20-НЕТЕ на открытие Ca²⁺-зависимых K⁺-каналов. Выявлено, что 20-НЕТЕ ингибирует

Ca^{2+} -зависимые K^{+} -каналы [14]. Однако в работе [15] показано, что в системе *in vitro* 20-НЕТЕ в концентрациях 10^{-10} - 10^{-6} М не вызывает изменения диаметра афферентных артериол почек, выделенных от интактных кроликов. Введение в инкубационную среду 20-НЕТЕ после обработки артериол адреналином, приводит к повышению сосудистого тонуса и дозозависимому сужению сосудов. Таким образом, биологическое действие соединения зависит от первоначального состояния объекта исследования.

При изучении влияния производных АА на функциональное состояние сосудов мозга было обнаружено, что 20-НЕТЕ синтезируется при участии изоформы цитохрома P4501VA и обладает выраженным сосудосуживающим действием. Механизм сосудосуживающего действия 20-НЕТЕ связан с блокированием 217-pS калиевых каналов в гладкомышечных клетках микрососудов коры головного мозга. Поэтому не вызывает удивления тот факт, что ингибирование цитохрома P450 соединением 17-ОДЯ приводит к расширению сосудов, связанному со значительным повышением активности этих каналов [16]. Этот метаболит АА играет существенную роль в определении кровяного давления в сосудах.

В экспериментах с использованием почечной артерии собаки показано, что 20-НЕТЕ обладает выраженным сосудосуживающим действием, тогда как 19R-НЕТЕ - сосудорасширяющим эффектом. Сосудосуживающий эффект 20-НЕТЕ связан с деполяризацией мембран и повышением концентрации ионов кальция в клетках гладких мышц сосудов, что приводит к нарушению функционирования 117-pS калиевых каналов [17].

При инкубации культуры клеток восходящего колена петли Генле кролика с меченой [^{14}C]-АА выявлено образование трех ее метаболитов в системе цитохрома P450 19-НЕТЕ, 20-НЕТЕ и 1,20-эйкоза-5,8,11,14-тетраендиовой кислоты (20-НООС-АА). Выделенные НЕТЕ обладают способностью расширять предварительно суженную мезентериальную артерию, причем 19(S)-и 19R-НЕТЕ были более активны, чем 20-НЕТЕ. Не обнаружено непосредственного влияния 20-НООС-АА на степень сужения сосудов, однако этот метаболит АА ингибирует $\text{Na}^{+}/\text{K}^{+}$ -АТФазную активность в клетках мозгового слоя почки [18].

P450-зависимые метаболиты АА играют важную роль в поддержании гомеостаза жизненно важных органов. Так, например, в бронхо-альвеолярной лаважной жидкости обнаружены все энантимеры ЕЕТ и дигидроксиейкозатриеновые кислоты. В опытах *in vitro* выявлено, что микромолярные концентрации метилированных 5,6-ЕЕТ и 8,9-ЕЕТ вызывают расслабление бронхов морских свинок, после предварительного введения в инкубационную среду гистамина, который вызывает их резкое спазмирование. Противоположное действие оказывает введение 20-НЕТЕ в среду инкубации изолированных бронхов. Это гидроксилизированное производное АА действует как синергист гистамина и его введение вызывает максимальный спазм бронхов [19]. Производные АА вовлечены в модуляцию и тонуса сосудов легких. Так, вызванная простагландином $\text{F}_{2\alpha}$ контрактура легочной вены собаки дозозависимо снимается 5,6-ЕЕТ [21].

В кардиомиоцитах в большем количестве содержится цитохром P4502J3. В результате метаболизма АА этим ферментом образуются 8,9-ЕЕТ, 11,12-ЕЕТ, 14,15-ЕЕТ и 19-НЕТЕ. Примечательно, что 11,12-ЕЕТ повышает способность к восстановлению сократительной способности сердечной мышцы после длительной ишемии [21].

Большое влияние оказывают метаболиты АА, образующиеся в системе цитохрома P450, на функциональное состояние сосудов почек.

Возможно, механизм сосудосуживающего действия вазопрессина опосредуется метаболитами АА.

В экспериментах с использованием перфузируемой почки крыс показано, что введение вазопрессина стимулирует метаболизм АА в системе цитохрома P450 с образованием дигидроксиейкозатриеновых кислот, ПЕТЕ и ЕЕТ. Действие вазопрессина блокируется введением ингибиторов цитохрома P450 5,8,11,14-эйкозатетраинового

кислоты (ЕТУА) и 7-этоксирезорифина. Предварительное введение крысам дексаметазона приводит к потенцированию эффекта вазопрессина [22]. Однако, этот вопрос требует дальнейшего изучения, так как другие авторы не обнаружили увеличения высвобождения НЕТЕ при введении аргинин-вазопрессина, вызывающего вазоактивный ответ сосудов почек [23]. Интересны результаты, полученные при исследовании влияния на сосуды антагониста вазопрессина - брадикинина. Его сосудорасширяющее действие опосредуется цитохромом P450, так как введение ингибиторов цитохрома P450, клотримазола и 7-этоксирезорифина значительно снижает эффекты брадикинина на сосуды почки в условиях перфузии [24]. Данное наблюдение подтверждает, что действия вазопрессина опосредует цитохром P450-зависимый компонент и, возможно, ряд других веществ, стимулирующих метаболизм АА.

Исследование метаболизма арахидоновой кислоты в системе цитохрома P450 сможет выявить новые аспекты механизма возникновения и развития гипертензии и гипертонической болезни.

Выше, при обсуждении влияния метаболитов АА, синтезируемых в системе цитохрома P450, уже было показано, что эти метаболиты являются одним из компонентов, определяющих сосудистый тонус. Таким образом, ингибирование или индукция цитохрома P450 влияет на давление крови в сосудах. Нарушение метаболизма АА оксигеназами со смешанной функцией может стать причиной развития гипертензии. Этому вопросу посвящены специальные исследования.

В ряде работ высказано мнение, что скорость образования и количество 20-НЕТЕ ферментами системы цитохрома P450 имеет большое значение в развитии гипертензии у крыс и осуществляет долговременный контроль артериального давления [25]. Показано, что содержание и базальная активность цитохрома P4501VA, измеренная по скорости превращения АА в 20-НЕТЕ, у крыс со спонтанной гипертензией (SHR) значительно выше, чем у крыс Браун-Норвей, Спрэг-Доули и Вистар-Киото [26]. Введение крысам SHR хлористого олова, повышающего активность гемоксигеназы, приводит к снижению содержания цитохрома P450 в почках. Вследствие этого наблюдается уменьшение образования P450-зависимых метаболитов АА, снижение артериального давления и повышение экскреции ионов натрия. Хроническая обработка хлористым оловом крыс SHR с 5-недельного возраста предотвращает развитие у них гипертонии [27]. В исследовании с использованием суспензии проксимальных канальцев почек крыс SHR и Вистар-Киото выявлено, что дофамин снижает реабсорбцию ионов натрия, дозозависимо ингибируя активность Na^+/K^+ -АТФазы. Предполагают, что в этот процесс вовлечена фосфолипаза A_2 (FA_2) и высвобождающаяся при ее действии АА, так как дофамин-индуцированное ингибирование Na^+/K^+ -АТФазной активности блокируется ингибитором FA_2 - менакрином. Добавление АА в среду инкубации дозозависимо ингибирует активность Na^+/K^+ -АТФазы у крыс Вистар-Киото. В то же время у крыс SHR наблюдается стимуляция активности Na^+/K^+ -АТФазы низкими концентрациями АА. Введение в инкубационную среду проадифена, ингибитора цитохрома P450, устраняет снижение активности Na^+/K^+ -АТФазы под влиянием АА у крыс Вистар-Киото и нивелирует различия в действиях АА на активность Na^+/K^+ -АТФазы у крыс Вистар-Киото и SHR. По мнению авторов, у крыс SHR существует дефект метаболизма АА, который и приводит к развитию гипертензии у этих животных [28].

Приведенные в обзоре данные свидетельствуют о значительной роли метаболитов АА, образующихся в системе цитохрома P450, в поддержании сосудистого тонуса и гомеостаза организма в целом. При лечении и профилактике сосудистых и других патологических состояний необходимо учитывать тот факт, что монооксигеназная система очень чувствительна к минимальным изменениям химического состава окружающей среды, рациона питания, в связи с чем может значительно изменяться ее активность и, соответственно, профиль метаболитов АА. Следует также отметить, что

большинство заболеваний человека протекает на фоне или снижения, или изменения активности ферментов системы цитохрома P450. Таким образом, вероятность развития нарушений функционального состояния кровеносных сосудов может в последующие годы значительно увеличиться, что необходимо учитывать при проведении лечебных и профилактических мероприятий.

ЛИТЕРАТУРА

1. Rifkind A B, Lee C, Chang TKH, Waxman DJ (1995), Arch. Biochem. Biophys., **320**, 380-389.
2. Gonzales-Castillo C, Franco M, Quintana A, Escalante B, Martinez F (1997), Eur. J. Pharmacol, **329**, 245-252
3. Harder D R, Lange A R, Gebremedhin D, Birks E K, Roman R J (1997), J. Vascul. Res, **34**, 237-243
4. Hu SL, Kirn HS (1993), Eur J Pharmacol, **230**, 215-221.
5. Pflster SL, Campbell WB (1992), Hypertention, **20**, 682-689.
6. Goepfert A R; Tekoppele JM; Glatt H R; Groot E J; Seidel A; Barrenschenn M; Wolfel C; Doeber J; Vermeulen N P E (1995), Chem.-Biol. Inter, **97**, 149-168.
7. Moore S A, Giordano MJ, Kirn H Y, Salem N, Spector A A (1991), J. Neurochem., **57**, 922-929.
8. Adeagbo A S (1997), Amer. J. Hypertension, **10**, Pt 1, 763-771.
9. Campbell W B, Gebremedhin D, Pratt P F, Harder D R (1996), Circulat. Res., **78**, 415-423.
10. Waldron G J, Dong H, Cole W C, Triggle C R (1996), Chung-Kuo Yao Li Hsueh Pao [Acta Pharmacologica Sinica], **17**, 3-7. Ref: 49.
11. Graier WF, Simecek S, Sturek M (1995), J. Physiol. - (London), **482**, 259-274.
12. Li P L, Campbell WB (1997), Circulat. Res., **80**, 877-884.
13. Fang X, Kaduce T L, Weintraub N L, VanRollins M, Spector A A (1996), Circulat. Res, **79**, 784-793.
14. Zou A P, Fleming JT, Falck JR, Jacobs E R, Gebremedhin D, Harder D R, Roman R J (1996), Amer. J. Hypertension, **270**, Pt 2, R228-R237.
15. Arima S, Omata K, Ito S, Tsunoda K, Abe K (1996), Hypertension, **27**, (Pt 2), 781-785.
16. Harder D R, Gebremedhin D, Narayanan J, Jefcoat C, Falck J R, Campbell W B, Roman R (1994), Am. J. Physiol. **1**, **266**, H2098-H2107.
17. Ma Y H, Gebremedhin D, Schwartzman ML, Falck J R, Clark J E, Masters B S, Harder D R, Roman R J (1993), Circulat. Res, **72**, 126-136.
18. Carroll MA, Sala A, Dunn C E, McGiff J C, Murphy R C (1991), J. Biol. Chem., **266**, 2306-2312.
19. Zeldin D C, Phtman JD, Kobayashi J, Miller R F, Snapper JR, Falck JR, Szarek JL, Philpot R M, Capdevila JH (1995), J. Clin. Invest., **95**, 2150-2160.
20. Zeldin D C, Foley J, Ma J, Boyle J E, Pascual J M, Moomaw C R, Tomer K B, Steenbergen C, Wu S (1996), Mol Pharmacol, **50**, 1111-1117.
21. Carroll MA, Balazy M, Huang D D, Rybalova S, Falck JR, McGiff J C (1997), Kidney Int. **51**, 1696-1702.
22. Vazquez B, Rios A, Escalante B (1995), Life Sci, **56**, 1455-1466.

23. *Carroll MA, Balazy M, Margiotta P, Huang DD, Falck JR, McGiff JC* (1996), *American J. Physiol.*, **271**, Pt 2, R863-869.
24. *Fulton D, McGiff JC, Quilley J* (1992), *Br. J. Pharmacol*, **107**, 722-725.
25. *Stec D E, Mattson D L, Roman R J* (1997), *Hypertension*, **29**, Pt 2, 315-319.
26. *Schwartzman ML, da Silva JL, Lin F, Nishimura M, Abraham NG* (1996), *Nephron*, **73**, N4 652-63.
27. *Laniadoschwartzman M, Abraham NG, Sacerdoti D, Escalante B, McGiff JC* (1992), *Tohoku J. Exper. Med.*, **166**, 85-91.
28. *Hussam T, Lokhandwala M F* (1996), *Clin. Exper. Hyperten.*, **18**, 963-974.

THE INFLUENCE OF CYTOCHROME P450-DEPENDENT ARACHIDONIC ACID METABOLITES I N REGULATION OF THE VASCULAR TONE

KRZHECHKOVSKAYA V.V., NEBOLSIN V.E., ZHELTUKHINA G.A.,
EVSTIGNEEVA R.P., RUBTSOVA E.R.

Lomonosov Moscow State Academy of Fine Technologies.

The present paper reviews recent studies about the role of the cytochrome P-450-dependent arachidonic acid metabolites. These metabolites take part in the regulation of the vascular tone. They are the intracellular messenger and play an integral role in the relation of the vascular endothelium and smooth muscle cells. The arachidonic acid metabolites regulate the activity of the ionic channels. It is demonstrated that derivatives of arachidonic acid have the role in the pathogenesis of hypertension.

Key words: arachidonic acid metabolites, cytochrome P450, vascular tone.