



АРГИНАЗА – НОВАЯ МИШЕНЬ ДЛЯ ФАРМАКОЛОГИЧЕСКОЙ КОРРЕКЦИИ ЭНДОТЕЛИАЛЬНОЙ ДИСФУНКЦИИ

В.И. ЯКУШЕВ¹
М.В. ПОКРОВСКИЙ¹
М.В. КОРОКИН¹
Т.Г. ПОКРОВСКАЯ¹
В.А. КУЛИКОВСКАЯ¹
И.Н. ЕРШОВ¹
Е.А. БЕСХМЕЛЬНИЦЫНА¹
А.А. АРУСТАМОВА¹
Л.В. КОТЕЛЬНИКОВА²

¹ Белгородский государственный национальный исследовательский университет

² Курский государственный медицинский Университет

e-mail: vladi-yakus@yandex.ru

Аргиназа катализирует гидролиз L-аргинина, субстрата для синтеза оксида азота, до L-орнитина и мочевины. В организме человека обнаружены две изоформы аргиназы. Аргиназа I локализуется в цитоплазме клеток и экспрессируется преимущественно в печени. Аргиназа II – это митохондриальный белок, который экспрессируется в почках, простате, сосудистой стенке. Аргиназа II гидролизует L-аргинин, снижая тем самым синтез оксида азота, приводит к развитию эндотелиальной дисфункции и возникновению целого ряда кардиоваскулярной патологии.

Ключевые слова: L-аргинин, аргиназа I, аргиназа II, эндотелиальная дисфункция, диабет, гипертензия, эндотелиальная синтаза оксида азота.

Современные исследования доказали, что дисфункция эндотелия является обязательным компонентом патогенеза практически всех сердечно-сосудистых заболеваний, включая атеросклероз, гипертонию, ишемическую болезнь сердца (ИБС), хроническую сердечную недостаточность. ИБС и артериальная гипертензия (АГ) являются одними из основных факторов, повышающих инвалидизацию и смертность за счет таких осложнений, как инфаркт миокарда, сердечная недостаточность и инсульт [1].

Эндотелиальная дисфункция – это дисбаланс между сосудорасширяющими и сосудосуживающими медиаторами, который, как правило, характеризуется уменьшением выработки вазодилаторов [2, 4, 6].

Целью данного литературного обзора явилась оценка роли аргиназы в патогенезе эндотелиальной дисфункции целого ряда кардиоваскулярных заболеваний.

Ключевым звеном в патогенезе эндотелиальной дисфункции (ЭД) является дефицит эндогенного оксида азота (NO) [3, 4]. В физиологических условиях синтез NO осуществляется из L-аргинина под действием фермента эндотелиальной NO-синтазы. L-аргинин – это катионная полузаменимая аминокислота, вовлеченная в многочисленные физиологические процессы [2, 3, 4]. Аргинин служит необходимым предшественником для синтеза белков и многих биологически важных молекул, таких как орнитин, пролин, полиамины, креатин и агматин. Однако главная роль аргинина в организме человека – быть субстратом для синтеза NO [2, 3, 5]. Действие NO разнонаправлено и включает в себя: вазодилатирующее действие; антиатеросклеротическое действие (тормозит клеточную пролиферацию); антитромботическое действие; антиадгезивное действие (препятствует адгезии циркулирующих тромбоцитов и лейкоцитов к эндотелию); регулирует расслабление стенки кишечника, желудка, эрекцию, дилатацию трахеи, опорожнение мочевого пузыря и некоторые другие висцеральные функции [2, 5, 6, 9]. Пониженная биодоступность NO является общим механизмом, вовлеченным в патогенез различных сосудистых расстройств (в том числе гипертензии, атеросклероза, диабета и ишемически-реперфузионного повреждения) [3, 18, 23]. Интересно, что клинические и экспериментальные исследования, проведенные в течение последнего десятилетия, показывают, что приём L-аргинина восстанавливает синтез NO и сосудистую функцию при некоторых сердечно-сосудистых заболеваниях. Это наводит на предположение о том, что пониженная доступность L-аргинина лежит в основе данных сосудистых патологий [3, 5, 13, 32]. Факт о том, что L-аргинин влияет на генерацию NO, четко подкрепляется фенотипом редкого генетического дефицита L-аргинина у людей [25]. Несмотря на то, что точная причина снижения доступности L-аргинина остается неизвестной, новые доказательства наводят на предположение о том, что в этот процесс может вовлекаться катаболизм L-аргинина со стороны аргиназы.

Аргиназа является дивалентным марганцевым металлоферментом, который катализирует гидролиз L-аргинина до L-орнитина и мочевины. В организме млекопитающих обнаружены два типа этого фермента, кодирующиеся различными генами. Аргиназа I локализуется в цитоплазме клеток и экспрессируется преимущественно в печени, но также обнаружена в эритроцитах, в ткани молочной железы в период лактации. Аргиназа II – это митохондриальный белок, который широко распространён в тканях. В большей степени его экспрессия осуществляется в почках и простате, в меньшей степени – в печени [28, 33]. Недавно проведенные исследования зарегистрировали наличие аргиназы в сосудистой сети. В частности, было обнаружено, что культивируемые клетки гладких мышц аорты крыс демонстрируют существенную активность аргиназы, при этом большая часть L-аргинина поглощалась для производства мочевины, нежели для производства NO, а также что ингибирование аргиназы или дополнительное введение культуральных сред с L-аргинином приводило к увеличению синтеза NO. Совсем недавно было показано, что ингибирование аргиназы стимулирует синтез NO в эндотелиальных клетках [10]. Кроме того, гиперэкспрессия аргиназы I или аргиназы II подавляет генерацию NO в эндотелиальных клетках. Это связано с существенным снижением внутриклеточного содержания L-аргинина [24]. Интересно, что существенная экспрессия аргиназы в эндотелиальных клетках микрососудов противодействует опосредованной NO-дилатации, что наводит на предположение о том, что аргиназа содействует вазоконстрикторной функции [19, 36].

Генетические исследования также подтверждают роль аргиназы в регуляции доступности L-аргинина. Нокаут гена, кодирующего аргиназу I у мышей, приводит к тяжелой гиперуремии и гибели в течение 10-12 дней после рождения [11, 17]. При этом нокаут гена аргиназы II не вызывает гиперуремии и не влияет на жизнеспособность мышей. У мышей с нокаутом гена аргиназы II отмечается нулевое содержание аргиназы II и приблизительно двукратное увеличение концентрации L-аргинина в плазме [29, 30]. Так или иначе, в отличие от животного с дефицитом аргиназы I, фенотип животного с удаленной аргиназой II не отличим от фенотипа мышей дикого типа. Данные открытия предполагают, что обе изоформы аргиназы играют важную роль в регуляции концентраций циркулирующего L-аргинина, однако они осуществляют различные биологические действия.

Эндотелиальная дисфункция, опосредованная аргиназой, также была обнаружена и в кровеносных сосудах стареющих животных [7]. Ингибирование аргиназы приводит к существенно более интенсивной дилатации предварительно суженных изолированных аортных колец старых крыс (в сравнении с молодыми крысами), что связано с повышенной степенью экспрессии аргиназ I и II. Кроме того L-аргинин приводит к существенной дилатации предварительно суженных колец молодых животных (в то время, как дилатация отсутствовала у старых крыс). Как бы то ни было, фармакологическое ингибирование аргиназы полностью восстанавливает вазодилатацию на L-аргинин в сосудах старых животных таким образом, что эффект аналогичен эффекту, наблюдаемому в аортных кольцах молодых животных. Совсем недавно нокаут экспрессии аргиназы I с использованием антисенсорного олигонуклеотидного подхода также продемонстрировал восстановление синтеза NO в сосудистой сети старых животных [34]. Также было показано, что аргиназа противодействует опосредованной NO-дилатации коронарных артериол после ишемии с последующей реперфузией [11]. Ишемия-реперфузия коронарных сосудов ингибирует синтез NO артериолами и эндотелийзависимую вазодилатацию, что связано с четким повышением степени сосудистой экспрессии аргиназы и ее активности. Кроме того, ингибирование аргиназы или дополнительное введение L-аргинина восстанавливает синтез NO и вазодилатационную функцию после ишемии-реперфузии. Это наводит на предположение о важной патофизиологической роли аргиназы при данном условии. Интересно, что высокие концентрации глюкозы повышают сосудистую активность аргиназы и что аргиназа также может способствовать эндотелиальной дисфункции при ожирении и диабете [14]. Уровень экспрессии аргиназы II повышается под действием оксидантного стресса, так как потенциальные, чувствительные к окислению восстановлению реактивные элементы были идентифицированы в промоторной области аргиназы II [22]. Кроме того, активность и экспрессия аргиназы I повышены в эндотелиальных клетках коронарных артериол у свиней с реноваскулярной гипертензией [36]. Коронарные артериолы данных гипертензивных животных демонстрируют пониженную степень продукции NO и опосредованную оксидом азота дилатацию на аденозин, которые частично восстанавливаются при ингибировании аргиназы или при инкубации с L-аргинином [36]. Кроме того, активность аргиназы в аорте и экспрессия аргиназы I и II повышены у спонтанно гипертензивных крыс. Это связано с ослабленными вазодилатационными реакциями на ацетилхолин [12]. Знаменательно, что постоянное пероральное лечение неселективным ингибитором аргиназы, а-дифторметилорнитинном, улучшает вазодилатационную реакцию на ацетилхолин и препятствует развитию гипертензии у крыс. Наряду с ролью аргиназы в стимуляции



эндотелиальной дисфункции у людей также сообщалось о повышенной экспрессии аргиназы II и пониженной степени синтеза NO в эндотелиальных клетках пациентов с легочной гипертензией [35].

Наконец, роль аргиназы в модуляции синтеза NO не ограничивается лишь эндотелием сосудов. Совсем недавно было обнаружено, что пещеристые (кавернозные) тела больных сахарным диабетом с эректильной дисфункцией демонстрируют более высокую степень активности аргиназы, пониженную степень синтеза NO и сниженную релаксацию гладких мышц [8]. Интересно, что фармакологическое ингибирование активности аргиназы корректирует дефицит синтеза NO и релаксации в диабетической ткани. Повышенная экспрессия аргиназы также способствует снижению синтезу NO и заживлению ран при диабете. Это наводит на предположение о том, что аргиназа может способствовать многочисленным клиническим осложнениям, связанным с диабетом [21]. Совсем недавно экспрессия аргиназы II была идентифицирована в кардиальных миоцитах. Было обнаружено, что она снижает объем синтеза NO в миокарде [22]. Кроме того, на модели компенсированной гипертрофии левого желудочка степень экспрессии аргиназы была снижена, что облегчало синтез NO [22]. Весьма провокационным является размышление о том, что повышенная активность аргиназы может привести к декомпенсированной форме сердечной недостаточности.

Накапливающиеся доказательства наводят на предположение о том, что аргиназа может также способствовать пролиферации клеток гладких мышц сосудов и внеклеточному матричному отложению, генерируя биологически важные молекулы. В то время как один продукт аргиназы – мочевины – быстро выделяется через почки, другой продукт аргиназы – L-орнитин – подвергается процессу дальнейшего метаболизма со стороны декарбоксилазы орнитина до полиамина, путресцина, который формирует последующие полиамины, спермин и спермидин [31]. Полиамины играют существенную роль в митогенной реакции клеток. Пролиферации клеток гладких мышц сосудов предшествуют повышению активности декарбоксилазы орнитина и синтеза полиаминов, а ингибирование формирования полиаминов ингибирует рост клеток гладких мышц. L-орнитин также преобразуется аминотрансферазой орнитина до пирролин-5-карбоксилата, который в дальнейшем метаболизируется до L-пролина, являющегося важным для синтеза большого количества структурных белков (в том числе и коллагена) [31].

Несколько линий доказательств подкрепляют роль аргиназы в процессе роста клеток гладких мышц. В пролиферационных клетках имеет место повышенная степень экспрессии аргиназы и образование полиаминов [12]. Кроме того, стабильная гиперэкспрессия аргиназы I в клетках гладких мышц аорты крыс связана с повышенным объемом производства полиаминов и более высокими скоростями пролиферации клеток. Фармакологическое ингибирование активности аргиназы снижает объем производства полиаминов и ингибирует рост клеток гладких мышц. Способность аргиназы напрямую стимулировать пролиферацию клеток гладких мышц методом повышения степени синтеза полиаминов также может усиливаться опосредованным аргиназой угнетением синтеза NO, которая является ингибитором роста клеток гладких мышц. Гиперплазия интимы в маточных артериях предклимактерическом периоде связана с повышенной активностью аргиназы в эндотелиальных клетках и слое гладких мышц [26]. Интересно, что аргиназа также была идентифицирована в качестве потенциального гена-кандидата, влияющего на восприимчивость к атеросклеротическому повреждению [31].

Опосредованное аргиназой ухудшение синтеза NO также было обнаружено и при других патологических состояниях: при астме, муковисцидозе, гломерулонефрите, псориазе, артрите и серповидно-клеточной (дрепаноцитарной) анемии [26, 27, 28].

Таким образом, аргиназа является перспективной фармакологической мишенью в коррекции эндотелиальной дисфункции и целого ряда сердечно-сосудистых заболеваний. В качестве потенциальных ингибиторов аргиназы могут быть использованы следующие вещества: L-орнитин, L-лизин, L-валин, L-лейцин, L-изолейцин, L-норвалин, L-пролин, L-цитруллин, гидроксилламин и, возможно, некоторые другие [10, 15].

Литература

1. Бокарев, И. Н. Артериальная гипертония – болезнь или фактор риска? / И.Н. Бокарев // Клинич. медицина. – 2004. – №9. – С. 69-71.
2. Покровская, Т.Г. Использование L-аргинина в профилактике нарушений функции эндотелия в условиях ингибирования эндотелиальной и индуцибельной NO-синтаз / Т.Г. Покровская, В.И. Кочкаров, М.В. Покровский и др. // Аллергология и иммунология. – 2008. – Т. 9, № 3. – С. 328.

3. Покровская, Т.Г. Роль фармакологической коррекции метаболического пути L-аргинин/NO при моделировании дефицита оксида азота / Т.Г. Покровская // Кубанский науч. мед. вестн. – 2008. – № 4. – С. 122-125.
4. Покровская, Т.Г. Эндотелиопротективное действие L-аргинина при фармакологическом способе моделирования дефицита оксида азота / Т.Г. Покровская, В.И. Кочкаров, Л.М. Даниленко и др. // Научные ведомости Белгородского гос. ун-та. – 2006. – № 3 (23), вып. 4. – С. 43-51.
5. Покровский, М.В. Эндотелиопротективные эффекты L-аргинина при экспериментальном моделировании дефицита оксида азота / М.В. Покровский, Т.Г. Покровская, В.И. Кочкаров, Е.Б. Артюшкова // Эксперим. и клинич. фармакология. – 2008. – Т. 71, № 2. – С. 29-31.
6. Солонин, Д.Л. Роль оксида азота в регуляции растяжимости артериальных сосудов у нормо- и гипертензивных крыс / Д.Л. Солонин, А.В. Сыренский, М.М. Галагудза и др. // Артериальная гипертензия. – 2002. – № 6. – С. 57-64.
7. Berkowitz, D. Arginase reciprocally regulates nitric oxide synthase activity and contributes to endothelial dysfunction in aging blood vessels / D. Berkowitz, R. White et al // Circulation. – 2003. – Vol. 108. – P. 2000-2006.
8. Bivalacqua, T. Increased expression of arginase II in human diabetic corpus cavernosum in diabetic-associated erectile dysfunction / T. Bivalacqua, W. Hellstrom, P. Kadowitz et al // Biochem Biophys Res Commun. – 2001. – Vol. 283. – P. 923-927.
9. Böger, R.H. The pharmacodynamics of L-arginine / R.H. Böger // J. Nutr. – 2007. – Vol. 137. – P. 1650-1655.
10. Chicoine, L.G. Arginase inhibition increases nitric oxide production in bovine pulmonary arterial endothelial cells / L.G. Chicoine, M.L. Paffet, T.L. Young et al // Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol. – 2004. – Vol. 287. – P. 60-68.
11. Crombez, E.A. Hyperargininemia due to liver arginase deficiency / E.A. Crombez, S.D. Cederbaum // Mol Genet Metabol. – 2005. – Vol. 84. – P. 243-251.
12. Demougeot, C. Arginase inhibition reduced endothelial dysfunction and blood pressure rising in spontaneously hypertensive rats / C. Demougeot, A. Prigent-Tessier, C. Marie et al // J Hypertens. – 2005. – Vol. 23. – P. 971-978.
13. Drexler, H. Correction of endothelial dysfunction in coronary microcirculation of hypercholesterolemic patients by L-arginine / H. Drexler, A.M. Zeiher, K. Meinzer // Lancet. – 1991. – Vol. 67. – P. 1301-1308.
14. Durante, W. Arginase induces endothelial dysfunction and hypertension in obese Zucker rats / W. Durante, F.K. Johnson, R.A. Johnson et al // Diabetes. – 2005. – Vol. 54. – P. 120-124.
15. Hein, T.W. Ischemia-reperfusion selectively impairs nitric oxide-mediated dilation in coronary arterioles: counteracting role of arginase / T.W. Hein, C. Zhang, W. Wang et al // FASEB J. – 2003. – Vol. 17. – P. 2328-2330.
16. Ignarro, L.J. Role of arginine-nitric oxide pathway in the regulation of vascular smooth muscle cell proliferation / L.J. Ignarro, G.M. Buga, L.H. Wei et al // Proc Natl Acad Sci USA. – 2001. – Vol. 98. – P. 4202-4208.
17. Iyer, R. K. Mouse model for human arginase deficiency / R. K. Iyer, P. K. Yoo, R.M. Kern et al // Mol Cell Biol. – 2002. – Vol. 22. – P. 4491-4498.
18. John, S, Schneider R. E. Potential mechanisms of impaired endothelial function in arterial hypertension and hypercholesterolemia / S. John, R.E. Schneider // Curr Hypertens Rep. – 2003. – Vol. 5. – P. 199-207.
19. Johnson, F.K. Arginase inhibition restores arteriolar endothelial function in Dahl rats with salt-induced hypertension / F.K. Johnson, R.A. Johnson, K.J. Peyton et al // Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol. – 2005. – Vol. 288. – P. 1057-1062.
20. Jung, A.S. Modulation of contractility by myocyte-derived arginase in normal and hypertrophied feline myocardium / A.S. Jung, R.M. Wilson, S.R. Houser et al // Am J Physiol Heart Circ Physiol. – 2005. – Vol. 34. – P. 298-305.
21. Kampfer, H. Expression and activity of arginase isozymes during normal and diabetic-impaired skin repair / H. Kampfer, J. Pfeilschifter, S. Frank // J Invest Dermatol. – 2003. – Vol. 121. – P. 1544-1551.
22. Kawamoto, S. Complete nucleotide sequence of cDNA and deduced amino acid sequence of the rat liver arginase / S. Kawamoto, Y. Amaya, K. Murakami et al // Amaya J Biol Chem. – 1987. – Vol. 262. – P. 6280-6283.
23. Lefer, A. The role of nitric oxide and cell adhesion molecules on the microcirculation in ischemia-reperfusion / A. Lefer, D.J. Lefer // Cardiovas Res. – 1996. – Vol. 32. – P. 743-751.
24. Li, H. Regulatory role of arginase I and II in nitric oxide, polyamine, and proline synthesis in endothelial cells / H. Li, C.J. Meininger, J.R. Hawker et al // Am J Physiol Endocrinol Metab. – 2001. – Vol. 280. – P. 75-82.
25. Loscalzo, J. An experiment in nature: genetic L-arginine deficiency and NO insufficiency / J. Loscalzo // J Clin Invest. – 2001. – Vol. 108. – P. 663-664.
26. Loyaga-Rendon, R. Accumulated endogenous nitric oxide synthase inhibitors, enhanced arginase activity, attenuated dimethylarginine dimethylaminohydrolase activity and intimal hyperplasia in premenopausal human uterine arteries / R. Loyaga-Rendon, S. Sakamoto, M. Beppu et al // Atherosclerosis. – 2005. – Vol. 178. – P. 231-239.
27. Meurs, H. Arginase and asthma: novel insights into nitric oxide homeostasis and airway hyperresponsiveness / H. Meurs, H. Maarsingh, J. Zaagsma // TIPS. – 2003. – Vol. 24. – P. 450-454.



28. Morris, C.R. Dysregulated arginine metabolism, hemolysis-associated pulmonary hypertension, and limited substrate availability in sickle cell disease / C.R. Morris, G.J. Kato, M. Poljakovic et al // JAMA. – 2005. – Vol. 294. – P. 81-90.
29. Morris, S.M. Human type II arginase: sequence analysis and tissue-specific expression Gene / S.M. Morris, D. Bhamidipati, D. Kepka-Lenhart // Mol Genet Metabol. – 1997. – Vol. 193. – P. 157-161.
30. Shi, O. Generation of a mouse model for arginase II deficiency by targeted disruption of the arginase II gene / O. Shi, S.M. Morris, H. Zoghbi et al // Mol Cell Biol. – 2001. – Vol. 21. – P. 811-813.
31. Teupser, D. Identification of macrophage arginase I as a new candidate gene of atherosclerosis resistance / D. Teupser, R. Burkhardt, W. Wilfert, I. Haffner et al // Arterioscler Thromb Vasc Biol. – 2006. – Vol. 26. – P. 365-371.
32. Tousoulis, D. L-Arginine in cardiovascular disease: dream or reality? / D. Tousoulis, C. Antoniades, C. Tentolouris // Vasc Med. – 2002. – Vol. 7. – P. 203-211.
33. Vockley, J.G. Cloning and characterization of the human type II arginase gene / J.G. Genomics, C.P. Jenkinson, H. Shukla et al // Vockley. – 1996. – Vol. 2. – P. 118-123.
34. White, A.R. Knockdown of arginase I restores NO signaling in the vasculature of old rats / A.R. White, S. Ryoo, D. Li et al // Hypertension. – 2007. – Vol. 19. – P. 57-62.
35. Xu, W. Increased arginase II and decreased NO synthesis in endothelial cells of patients with pulmonary artery hypertension / W. Xu, T. Kaneko, S. Zheng et al // FASEB J. – 2004. – Vol. 18. – P. 1746-1748.
36. Zhang, C. Constitutive expression of arginase in microvascular endothelial cells counteracts nitric oxide-mediated vasodilatory function / C. Zhang, T.W. Hein, W. Wang et al // FASEB J. – 2001. – Vol. 15. – P. 1264-1266.

ARGINASE IS A NEW TARGET FOR PHARMACOLOGICAL CORRECTION OF THE ENDOTHELIAL DYSFUNCTION

V.I. YAKUSHEV¹

M.V. POKROVSKY¹

M.V. KOROKIN¹

T.G. POKROVSKAYA¹

V.A. KULIKOVSKAYA¹

I.N. ERSHOV¹

E.A. BESHMELNITSYNA¹

A.A. ARUSTAMOVA¹

L.V. KOTELNIKOVA²

Arginase catalyzes the hydrolysis of the substrate for nitric oxide synthesis L-arginine to L-ornithine and urea. In the human organism two isoforms of arginase were found. Arginase I localizes in the cytoplasm of cells and predominantly expresses in the liver. Arginase II is a mitochondrial protein that expresses in the kidney, prostate and vascular wall. Arginase II hydrolyzes L-arginine, thereby reducing the synthesis of the nitric oxide and leading to the development of the endothelial dysfunction and the emergence of a number of the cardiovascular pathology.

Keywords: L-arginine, arginase I, arginase II, endothelial dysfunction, diabetes, hypertension, endothelial nitric oxide synthase.

¹⁾ *Belgorod National Research University*

²⁾ *Kursk State Medical University*

e-mail: vladi-yakus@yandex.ru