

А.И. Соловьев

Кальций-независимый механизм сокращения гладких мышц и миокарда – фантазия или реальность?

(теоретико-экспериментальная база для создания нового класса лекарственных средств)

ДУ "Институт фармакологии и токсикологии АМН Украины", г. Киев

Ключевые слова: гладкие мышцы • миокард • кальций-независимый механизм сокращения

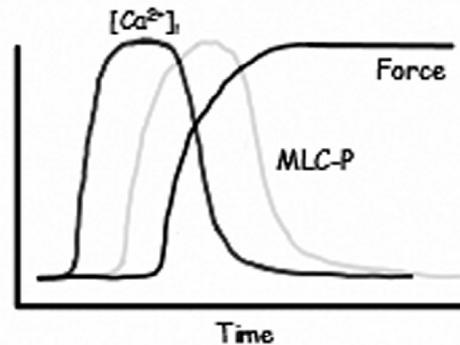
Традиционные представления физиологии мышечного сокращения предполагают существование тесной функциональной связи между изменениями внутриклеточной концентрации ионизированного кальция $[Ca^{2+}]_i$ и уровнем изометрического напряжения мышц. В последние годы, в связи с появлением новых методик (skinned or permeabilized гладкие мышцы (ГМ) сосудов и сердечной мышцы, синхронная регистрация $[Ca^{2+}]_i$ и уровня изометрического напряжения мышц), стало ясным, что это положение соблюдается в реальных условиях далеко не всегда. Иными словами, уровень тонического напряжения мышц может изменяться и без сопутствующих сдвигов $[Ca^{2+}]_i$, только лишь за счет изменений так называемой чувствительности (средства) миофиламент к ионам кальция.

Так, например, было установлено (Soloviev et al., 2002, 2004), что оксид азота (NO) может расслаблять гладкие мышцы (ГМ) сосудов без предшествующего снижения $[Ca^{2+}]_i$, а расслабление ГМ при гипоксии связано со снижением кальциевой чувствительности миофиламент (Soloviev, Vazilyuk, 1993). И, напротив, повышенная чувствительность миофиламент к кальцию является причиной гиперсократимости ГМ, наблюдаемой при генетически детерминированной гипертензии и после воздействия ионизирующей радиации (Soloviev, Bershtein, 1992, Soloviev et al 2005).

Полученные данные помимо их важного фундаментального значения, открывают принципиально новые возможности для создания нового класса лекарственных препаратов, обладающих прямым влиянием на сократительный аппарат мышечных клеток – так называемых идеальных кардиотоников и вазотоников.

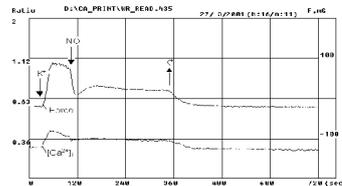
Как создается лекарственный препарат? Есть два основных пути. Прежде всего, это синтез новых молекул с их последующим скринингом. Для отечественной фармакологии и фармации он не годится, так как практически полностью отсутствует необходимое современное оборудование для автоматизированного скрининга потенциальных лекарственных средств. Поиск новой эффективной молекулы затянется на многие десятки лет. Реальным остается другой путь, патофизиологический – идентификация ранее не известных звеньев патогенеза основных важнейших заболеваний (ферментных систем, ионных каналов и т.п.) и уже затем направленный синтез новых молекул.

Очень важно определиться с тем, что будет являться фармакологической мишенью в клетке для потенциального лекарственного препарата. В данном случае это сократительный аппарат мышечных клеток.

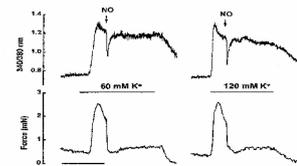


Сила сокращения, $[Ca^{2+}]_i$ и фосфорилирование легкой цепи миозина в сокращающейся мышце

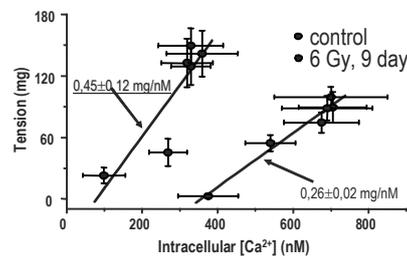
Original recording showing dissociation between $[Ca^{2+}]_i$ and force in vascular smooth muscle under nitric oxide action.



A. Soloviev et al. *Cardiovasc. Toxicol.*, 2002, 2, 151-160



A. Soloviev et al., *Cell Calcium*, 2004, 36, 165-173



Soloviev A. et al., *Am. J. Physiol.* 289: R755-R762, 2005. 2005

Влияние радиации (6 Gy) на соотношение $[Ca^{2+}]_i$ - изометрическое напряжение (коэффициент кальциевой чувствительности) в грудной аорте крысы

Точная идентификация фармакологической мишени позволит приблизиться к созданию так называемого идеального препарата, так как только в этом случае появится гарантия точной "доставки письма адресату", что позволит резко снизить вероятность развития побочных эффектов.

Проблема создания идеального (истинного) кардиотоника уже многие годы остается в центре внимания патофизиологов и фармакологов всего мира. Существующие препараты для лечения сердечной недостаточности, в частности сердечные гликозиды, обладают целым рядом недостатков. Главными из них являются: недостаточная широта терапевтического действия, токсичность и способность приводить к развитию нарушений сердечного ритма из-за перегрузки миокардиоцитов кальцием и развития электрической нестабильности миокарда, не говоря уже о сопутствующих нарушениях деятельности желудочно-кишечного тракта и центральной нервной системы, а также расстройствах зрения.

Поскольку в сердце, например, в условиях дефицита кислорода и при сердечной недостаточности, кальциевая чувствительность миофиламент снижена, то логично предположить, что наилучшим путем восстановления силы сокращений миокарда было бы избирательное увеличение кальциевой чувствительности сократительного аппарата клеток сердечной мышцы с помощью препаратов, которые не приводят к перегрузке миокардиоцитов ионами кальция.

Итак, "идеальным" кардиотоником и/или вазотоником может быть только такой препарат, единственным механизмом действия которого являлось бы избирательное увеличение/снижение чувствительности миофиламент кардиомиоцитов и/или гладкомышечных клеток к ионам кальция.

Какое же химическое или ферментативное воздействие может привести к изменениям в кальциевой чувствительности миофиламент в сердце и гладкомышечной ткани? Протеинкиназа С (PKC), открытая Я. Нишизукой в 1977г., является одним из важнейших элементов клеточной сигнализации. Это Ser\Thr-специфическая протеинкиназа, которая экспрессируется практически во всех клетках млекопитающих. Для понимания сути проблемы, отмечу лишь один ключевой моменты. Фермент состоит из двух субъединиц- гидрофобной регуляторной, "заякоренной" на мембране, и гидрофильной, содержащей активный центр фермента. Пептидный мостик между этими двумя доменами может расщепляться кальций-зависимыми протеазами, что приводит к образованию каталитически активного фрагмента (протеинкиназа М), активность которого (внимание!) не зависит ни от кальция, ни от фосфолипидов. Одним из активаторов PKC считают диацилглицерол, который способен активировать фермент при минимальных концентрация внутриклеточного кальция. В связи с этим, PKC называют кальций-зависимым ферментом в биохимическом смысле, но кальций-независимым в физиологическом отношении.

Уже через 7 лет после открытия PKC, в Докладах АН СССР (1985) мы опубликовали первую статью, в которой экспериментально доказали существование цАМФ-зависимого механизма регуляции тонуса сосудов, не связан-

ного с изменениями внутриклеточной концентрации кальция.

Последующая разработка этой идеи убедила нас в том, что она может быть чрезвычайно полезной для понимания клеточных механизмах развития одной из наиболее распространенных и тяжелейших патологий сердечно-сосудистой системы – гипертонической болезни (ГБ). Мы задались целью идентифицировать звено патогенеза общее для различных форм и видов артериальной гипертензии, исходя из многоконтурности системы регуляции артериального давления, понимали сложность поиска какого-то одного главного механизма, ответственного поддержание высокого уровня системного артериального давления.

Сейчас уже хорошо известно, что, наряду с Rho-киназой (Chrissobolis, Sobey, 2001), именно PKC является одним из основных ферментов, участвующих в регуляции сосудистого тонуса (Lee, Severson, 1994). Оба эти фермента участвуют в регуляции кальциевого гомеостаза клетки и, что особенно важно, кальциевой чувствительности миофибрилл сосудистых гладкомышечных клеток и миокарда. Влияние PKC на процессы актомиозинового взаимодействия в гладких мышцах, в частности, связано с прямым регулированием фосфорилирования миозина, может быть опосредовано через воздействие на фосфатазу легкой цепи миозина, а также путем фосфорилирования такого белка как кальпонин. Необходимо подчеркнуть, что именно изменения сродства сократительных белков к кальцию определяют развитие стойких сокращений гладких мышц, как в норме, так и при патологии. Здесь уместным будет также отметить, что среди антигипертензивных препаратов нет соединений, способных влиять на активность этих киназ, регулирующих актомиозиновое взаимодействие и, соответственно, силу сокращений сосудистых мышц и миокарда.

В 2002 г. мы опубликовали работу (Soloviev et al., 2002) в которой постулировали существование артериальной гипертензии индуцированной у экспериментальных животных воздействием ионизирующей радиации. Несколько позже было установлено, что артериальная гипертензия, вызванная облучением, связана с ростом кальциевой чувствительности миофиламент опосредованной, в свою очередь, ростом активности PKC в сосудистой стенке (Soloviev et al., 2005).

Таким образом, есть основания утверждать, что в ближайшее время появится новая группа антигипертензивных препаратов, блокаторов PKC, обладающих прямым влиянием на сократительный аппарат ГМ сосудов и реализующих свое специфическое действие посредством снижения кальциевой чувствительности миофиламент. Что касается миокарда, то в данном случае чаще возникает необходимость стимулировать работу сердечной мышцы, что предполагает увеличение кальциевой чувствительности миофиламент и, следовательно, для данной цели необходимы активаторы PKC. Проблема эта несколько сложнее, так как активаторы PKC являются промотерами опухолевого роста. Необходимо сконструировать такую молекулу-активатор PKC, которая не обладала бы таким серьезным побочным эффектом как инициация опухолевого роста клеток