

**КАЛЛИКРЕИН-КИНИНОВАЯ СИСТЕМА. ПРОШЛОЕ И НАСТОЯЩЕЕ.
(К 90-ЛЕТИЮ ОТКРЫТИЯ СИСТЕМЫ)**© 2015 г. Г. А. Яровая[#], А. Е. НешковаГБОУ ДПО «Российская медицинская академия последипломного образования»,
123995, Москва, ул. Баррикадная, 2/1

Поступила в редакцию 19.09.2014 г. Принята к печати 06.11.2014 г.

Многокомпонентность калликреин-кининовой системы (ККС), полифункциональность системы в целом и каждого из ее компонентов, обеспечивающих ее участие в процессах адаптации, защиты организма и во многих других физиологических и патологических состояниях, является основной причиной неослабевающего интереса к этой системе в течение уже почти целого столетия. Обзор посвящен основным этапам расширения поля изучения ККС — от первых наблюдений гипотензивного эффекта мочи человека, введенной экспериментальным животным, до последних открытий, позволяющих понять структуру компонентов системы, осуществить клонирование и картирование генов этих компонентов. Представлены данные о свойствах и структуре индивидуальных компонентов системы и их пострансляционных превращениях. Существенное внимание уделено активации ККС в плазме крови, поскольку генерализованный кининогенез инициируется именно активацией прекалликреина плазмы. Приведены новые сведения о тканевой ККС, в том числе о тканевых калликреинах, гены которых расположены в дистальном отделе длинного плеча 19-й хромосомы. Многие из этих калликреинов рассматриваются в настоящее время как маркеры гормонозависимых злокачественных опухолей.

Ключевые слова: история открытия, плазменная ККС, контактная активация, брадикинин, рецепторы брадикинина, тканевая ККС.

DOI: 10.7868/S0132342315030112

СОДЕРЖАНИЕ

1. ВВЕДЕНИЕ. Историческая справка
2. Современная концепция структуры и функции ККС
3. Структурно-функциональные свойства основных компонентов ККС
 - Кининогены
 - Калликреины
 - Пути активации прекалликреина
 - Активация прекалликреина на полианионной искусственной поверхности
 - Активация прекалликреина на поверхности эндотелиальных клеток
 - Тканевые калликреины

Рецепторы брадикинина и их функции

Кининазы

4. ЗАКЛЮЧЕНИЕ

ИСТОРИЧЕСКАЯ СПРАВКА

Полифункциональность калликреин-кининовой системы (ККС) как в целом, так и каждого из ее компонентов уже почти столетие привлекает интерес к этой системе специалистов различного профиля. Ежегодно существенно расширяются представления о физиологической и патогенетической роли ККС и ее тесных множественных взаимодействиях с другими системами адаптации и защиты организма. Важной особенностью эволюции изучения ККС является тот факт, что на всех этапах познания ее устройства проводились параллельные исследования молекулярных механизмов регуляции таких протолитических систем как гемокоагуляция, фибринолиз, комплемент, ренин-ангиотензиновая система, а также других систем регуляции, включающих множество сигнальных молекул различной природы. Во многих случаях установлены механизмы и точки

Список сокращений: АД — артериальное давление; АПФ — ангиотензинпревращающий фермент; ВМК — высокомолекулярный кининоген; КЛК — калликреин; ККС — калликреин-кининовая система; НМК — низкомолекулярный кининоген; ПК — прекалликреин; СК — цитокератин 1; uPAR — рецептор активатора плазминогена урокиназного типа; tPA — тканевой активатор плазминогена.

[#] Автор для связи (тел.: +7 (499) 255-01-38; факс: +7 (495) 945-24-15; эл. почта: acadbio@mail.ru).

взаимодействия компонентов ККС с этими системами.

Более 90 лет тому назад врач хирургической клиники Мюнхенского университета Е.Р. Фрей наблюдал снижение кровяного давления при внутривенном введении мочи человека экспериментальным животным [1, 2]. Опыты проводились в поисках объяснения задержки мочи при рефлексоторной анурии у пациентов после оперативного вмешательства.

В отличие от большинства других ученых того времени д-р Фрей не стал рассматривать этот эффект как неспецифическое токсическое действие мочи, а интерпретировал его как “гормонозависимый эффект, результат специфического действия определенной субстанции” [1, 2]. В 1926–1930 гг. в совместной работе с химиком Г. Краутом из Института Р. Вильштаттера Фрею удалось выделить из мочи человека, а позже и из других органов млекопитающих субстанцию, которая отличалась от всех других известных к тому времени гипотензивных веществ [2–4]. Исследователь предположил, что эта субстанция генерируется рядом органов, выделяется почками и имеет предположительно кардиоваскулярный, вазоактивный эффект [2–6].

Около десяти лет спустя Е. Верле выделил и очистил гипотензивное вещество, названное калликреином (греческий синоним названия панкреатической железы). Калликреин (КЛК) был идентифицирован как протеолитический фермент, который освобождает щелочной декапептид из гликопротеида высокой молекулярной массы, присутствующего в плазме крови. Этот гликопротеид был назван кининогеном [3–6], и в 1930 г. кининоген был обнаружен в моче человека [4, 7].

Вскоре после открытия панкреатического калликреина [1, 2] был найден инактиватор, который элиминирует вызываемый им гипотензивный эффект [4]. Из органов быка Е. Верле выделил этот инактиватор, который стал известен как основной панкреатический ингибитор трипсина, названный позже апротинином, и установил его поливалентную природу [8]. Затем Фрей и Краут обнаружили и в крови человека инактиватор, который блокирует действие калликреина в физиологических условиях.

Все эти открытия укрепили веру Е. Фрея в то, что он открыл новые биологически активные вещества и механизмы, которые лежат в основе важных физиологических процессов. Более того, Фрей предложил использовать препарат панкреатического калликреина, который с 1930 г. стал производиться под названием “Padutin” (фирма “Bayer”), для лечения микроциркуляторных нарушений у пациентов [8]. А с 50-х годов при активном участии первооткрывателей гипотензивной системы апротинин тоже стал применяться в терапевтических целях как поливалентный пре-

парат “Trasylol” (фирма “Bayer”) для подавления избыточного протеолиза.

Следующей вехой в истории открытия ККС явилась публикация [9], описывающая действие калликреина на изолированный участок тонкой кишки как проявление эффекта нового фактора, вызывающего сокращение гладкой мускулатуры кишечника. Верле совместно с Фреем установили, что КЛК способен расщеплять белок плазмы крови, кининоген, в результате чего образуется щелочной олигопептид, каллидин. Вскоре стало ясно, что именно каллидин, а не КЛК, является тем соединением, которое сокращает гладкую мускулатуру кишки и вызывает гипотензивный эффект. Различие между этими веществами отчетливо проявлялось по отношению к ингибитору: апротинин подавлял действие КЛК, но не каллидина [8, 9]. Инактивация последнего происходила под действием высокомолекулярной фракции плазмы крови и экстракта из тканей, содержащих “кининазы”, которые вызывали деградацию каллидина. В последующих публикациях Верле описал кинаиназы как пептидазы [10].

К середине 30-х годов были изучены основные химические и фармакологические свойства каллидина, который оказался первым детально исследованным представителем щелочных тканевых гормонов пептидной природы, названных “кинами”. Таким образом, к этому времени стали известны основные функциональные факторы ККС: калликреин, кининоген, кинины, кинаиназы.

В 1937 г. Е. Верле, основываясь на взаимодействии компонентов ККС, впервые постулировал принципиальную структуру системы, которая представлена на рис. 1.

Поразителен тот факт, что хотя продолжавшиеся в начале 40-х годов прошлого столетия и активно возобновившиеся в 60–90-х годах исследования существенно расширили представление о функционировании ККС, сегодня можно уверенно констатировать, что предложенная Е. Верле схема ее устройства до сих пор справедлива. Правильность этой концепции и заложенные в ней идеи стимулировали их собственное развитие и уже изначально определили нужное направление изучения этой сложной системы.

Последовательность, логику и развитие концепций, приводящих к пониманию структуры и организации ККС, достаточно легко проследить благодаря бережному отношению и сохранению традиций Мюнхенской школой как колыбели ККС. Огромный пласт исследований, проведенных до начала 90-х годов, обобщен в монографии “The Kallikrein-Kinin System in Health and Disease” [11].

Независимо от работ Е. Верле бразильский патофизиолог М. Роша-е-Силва в 1949 г. обнаружил кинин, названный им брадикинином [12], кото-

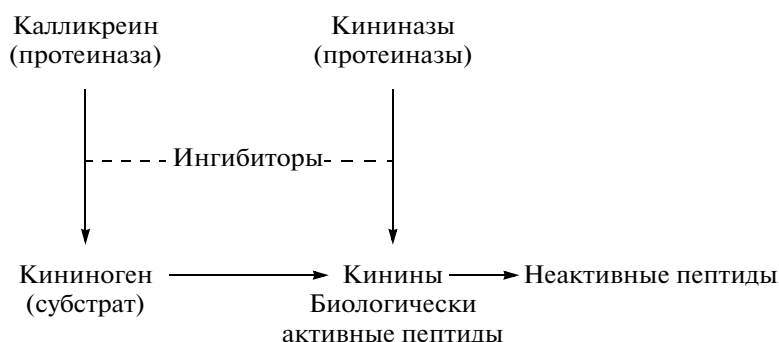


Рис. 1. Историческая концепция организации калликреин-кининовой системы.

рый был вычленен из белка плазмы крови, брадикининогена, под действием трипсина и протеиназ из яда змей. Вскоре было показано [13], что брадикинин образуется из того же белка плазмы крови, что и каллидин, из чего можно было ожидать, что каллидин и брадикинин идентичны. Более поздние исследования показали [14], что в плазме крови присутствуют два содержащих идентичный кининовый участок кининогена (выско- и низкомолекулярный), которые служат субстратами для калликреина и некоторых других протеиназ, называемых кининогеназами.

Структура брадикинина была расшифрована в 1960 г. [15], а годом позже было определено строение каллидина [16]. Каллидин, состоящий из 10 а.о., отличается от нонапептида брадикинина (Arg-Pro-Pro-Gly-Phe-Ser-Pro-Phe-Arg) наличием дополнительного *N*-концевого остатка Lys.

Выяснение структуры кининов стало решающим этапом дальнейшего изучения ККС не только в Германии, но и в Латинской Америке, Японии и США. Накопленные к 1967 г. знания об этой системе, включающие исследования в области биохимии, физиологии, патофизиологии и фармакологии, были представлены в монографии, опубликованной в 1968 г. [17]. До этого времени Фрей, Краут и Верле описали полученные ими результаты в монографии “Kallikrein, Pادتin” 1950 г. [8].

Важно отметить, что в 1952 г. Е. Верле установил, что апротинин подавляет также активность трипсина, химотрипсина и пламина [17]. Тем самым был открыт важнейший новый механизм регуляции (подавления) активности широко распространенных в организме протеиназ, выполняющих пищеварительные, фибринолитические и многие другие функции. Это, в свою очередь, вызвало большой интерес к возможности использования ингибиторов протеиназ для лечения болезней, которые развиваются с вовлечением неконтролируемого протеолиза, и способствовало открытию многих новых ингибиторов и их детальному изучению. Широкое распространение ингибиторов про-

теиназ в организме человека и животных и их важная роль в физиологических функциях и патофизиологических процессах были детально описаны в 1966 г. в монографии “Naturliche Proteinase Inhibitoren” [18].

Интенсивность изучения ККС существенно возросла в 80–90-е годы прошлого столетия в связи с появлением новых технологий, позволивших расшифровать структуру и взаимодействие компонентов системы, а также благодаря возможности выявить и клонировать гены, кодирующие синтез этих компонентов. В конце 70-х годов был проведен рентгеноструктурный анализ трех компонентов ККС: панкреатического калликреина, его инактиватора и тяжелой цепи кининогена [11].

К этому времени стали известны патогенетическая роль ККС и многие ее биологические функции, наиболее значимые из которых обсуждаются ниже. Так, было установлено, что кинины в минорных количествах, контролируемых ККС, влияют на обмен глюкозы и аминокислот в мышцах, сокращают гладкую мускулатуру кишечника и матки, обладают гипотензивным эффектом, поддерживая необходимый тонус сосудов совместно с ренин-ангиотензиновой системой [11]. Кроме того, кинины контролируют выделение воды и солей почками, влияют на подвижность сперматозоидов, на рост и скорость деления некоторых клеток. Эти эффекты осуществляются путем связывания кининов с их специфическими рецепторами на клеточных мембранах, которые активируют соответствующие клеточные функции, а также путем индуцированного кининами повышения активности других клеточных стимуляторов, таких как простагландины, оксид азота и др. [11].

Дезрегуляция или повреждение функционирования ККС, вызывающие дефицит кининов или дефект кининовых рецепторов, приводят, если организм не компенсирует эти процессы какими-то другими путями, к дисфункциям органов или болезням, которые включают некоторые формы гипертонии и диабета или снижают число и подвижность сперматозоидов, а также эффектив-

ность искусственного питания при интенсивной терапии у пациентов с “постагрессивным метаболизмом” (метаболический синдром). Такую дисфункцию и/или дефицит кининов было предложено устранять введением соответствующих лекарственных средств: брадикинина, который улучшает утилизацию глюкозы и аминокислот при метаболическом синдроме, или калликреина, который заметно снижает АД и увеличивает число и подвижность сперматозоидов. Кроме того, предлагалось вводить ингибиторы, блокирующие кининазы, которые разрушают брадикинин, в том числе ингибиторы кининазы II – фермента, который стали называть ангиотензинпревращающим ферментом (АПФ) и который также образует гипертензивный ангиотензин II [11].

От избыточного образования кининов организм защищен кининазами и ингибиторами калликреинов. В случае обширных повреждений организма (например, при политравмах) или при бактериальных инфекциях (например, сепсис) могут быть освобождены большие количества кининов, которые не только вызывают сильную боль, но также приводят к выходу жидкости из сосудов в ткани (образование отеков) и к потере жидкости в сосудистой системе, что проявляется в падении АД. В некоторых случаях эти явления способствуют появлению множественной органной недостаточности или развитию шока [18].

Однако исследования, выполненные в 80-х годах прошлого столетия, показали, что действие введенного брадикинина слишком кратковременно, а эффективность терапии апротинином зависит от дозы введенного ингибитора, поскольку он воздействует (хотя и в различной степени) на широкий спектр ферментов, что затрудняет верификацию терапии в ежедневной клинической практике [19, 20]. По этой причине некоторые группы исследователей начали работать над дизайном вариантов апротинина с высокоспецифическими ингибиторными свойствами путем молекулярного моделирования, используя генно-инженерные методы [20, 21].

Этот блок исследований позволил быстро прийти к новым открытиям и одновременно поставил множество вопросов. К тому времени уже стали интенсивно развиваться новые технологии в биохимии и молекулярной биологии, что дало возможность получить детальную информацию об индивидуальных компонентах ККС. Это, с одной стороны, существенно расширило понимание биологических функций системы. Например, стало очевидным существование двух систем – тканевой ККС, которая не только контролирует уровень кининов, но проявляет и другие функции (являясь, в том числе, фактором роста клеток), и плазменной ККС, которая, кроме кининообразования, играет важную роль в регуляции свертыва-

ния крови, заживлении ран и защите от инфекций (путем стимулирования фагоцитоза). С другой стороны, открытие новых неожиданных свойств компонентов ККС создало и новые проблемы. В частности, выяснилось, что предшественники кининов, кининогены, проявляют свойства ингибиторов цистеиновых протеиназ и кальпаинов, и этот факт до сих пор не объяснен.

Современные знания, касающиеся значения событий, в которых ККС в целом или ее отдельные компоненты кооперируются с другими системами организма, проявляя дополнительные функции (например, про- или антикоагулянтную активность, активацию фагоцитоза, генерирование или превращение некоторых пептидных гормонов и медиаторов, которые могут усиливать или нейтрализовать действие кининов, а также проявлять другие эффекты) крайне фрагментарны, и пока недостаточно обоснованы.

В то же время было уже ясно, что ККС важна для понимания многих фундаментальных механизмов регуляции биологических систем и проблем биохимии, фармакологии, молекулярной и клеточной биологии, имеющих не только научный интерес, но и практическое применение в медицине. Именно поэтому в изучение ККС вовлечен широкий круг известных специалистов в области химии, биохимии, фармакологии, молекулярной биологии и медицины различных стран.

Начиная с 1953 г. и до настоящего времени каждые три года Международный комитет “KININ” проводит международные конференции по ККС. Следует подчеркнуть, что особая роль в организации и координации исследований в изучении ККС принадлежит мюнхенской школе. В частности, большим успехом этой школы является разработка методологии расшифровки структуры комплексов протеиназа-ингибитор, за что в 1987 г. профессор Петер Хубер получил Нобелевскую премию по химии.

С начала 90-х годов исследования ККС концентрируются на структуре и функциях рецепторов кининов, а также на клонировании генов компонентов ККС и на производстве специфических ингибиторов протеиназ для клинической практики с использованием генно-инженерных технологий.

Таким образом, можно констатировать, что за 90-летний период изучение калликреин-кининовой системы прошло увлекательный путь от измерения кровяного давления до картирования генов.

СОВРЕМЕННАЯ КОНЦЕПЦИЯ СТРУКТУРЫ И ФУНКЦИЙ ККС

Обширные исследования, выполненные за последние два десятилетия, позволили существенно

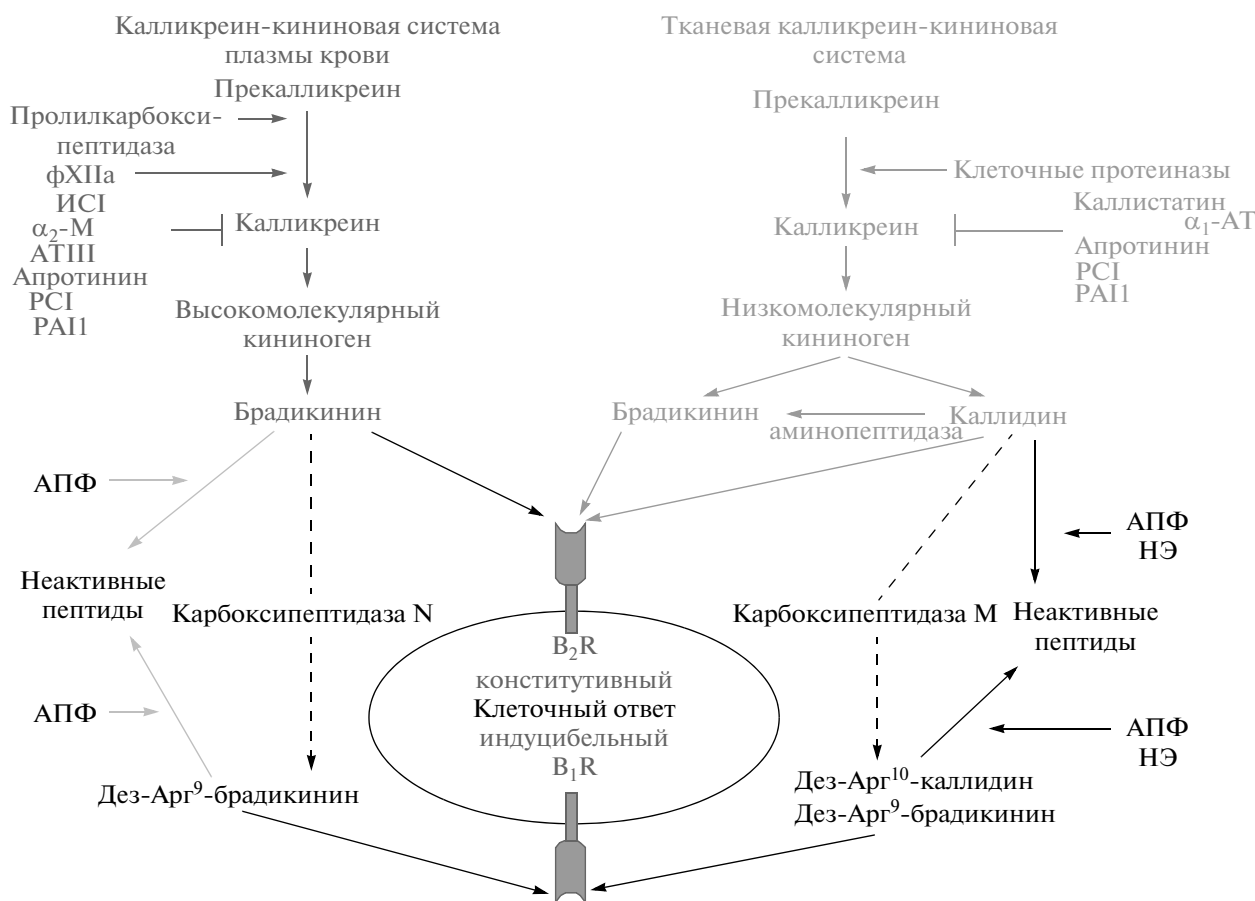


Рис. 2. Современная концепция организации калликреин-кининовой системы. фХIIa – активированный фактор XII свертывания крови; ИС1 – инактиватор 1-го компонента комплемента; α_2M – α_2 -макроглобулин; АТIII – антитромбин III; АПФ – ангиотензинпревращающий фермент; каллистатин – ингибитор тканевых калликреинов; α_1 -АТ – α_1 -антитрипсин; апротинин – ингибитор сериновых протеиназ; РС1 – инактиватор протеина С; РА11 – инактиватор I активатора плазминогена; НЭ – нейтральная эндопептидаза; B_1R – рецептор брадикинина B_1 ; B_2R – рецептор брадикинина B_2 .

углубить понимание не только устройства системы и отдельных ее компонентов, но и, главное, участия ККС в реализации многих физиологических функций и патологических процессов с расшифровкой их молекулярных механизмов.

Как и для большинства биологических систем, равновесное состояние ККС в физиологических условиях является облигатным, поддерживает строго определенный уровень всех компонентов системы, особенно, высокоактивных кининов, избыточное генерирование которых, как и их недостаток приводит к патологиям, часто несовместимым с жизнью.

Все известные на сегодня компоненты ККС, пути их взаимодействий и механизмы, контролирующей активность системы, приведены на рис. 2. Химическая структура и биологические свойства компонентов системы достаточно хорошо изучены, кроме того известны гены и локализация этих генов.

Кинины генерируются из высокомолекулярного и низкомолекулярного кининогенов-предшественников под действием калликреинов, соответственно плазменного и тканевых. В свою очередь предшественник плазменного калликреина (пропрекалликреин) синтезируется преимущественно в гепатоцитах, из которых он поступает в кровь в виде бимолекулярных комплексов с кининогеном. Предшественники тканевых калликреинов синтезируются, в основном, в тканях с экзокринной функцией. Активация прекалликреинов в плазме крови и тканях осуществляется в результате внутримолекулярной перестройки, без фрагментации, под действием ряда протеиназ. Кинины, реализующие биологические эффекты через рецепторы B_2 (конститутивный) и B_1 (индуцибельный), являются короткоживущими пептидами, уровень которых контролируется скоростью их образования из кининогенов и степенью разрушения под действием кининаз, представленных несколькими протеиназами. Актив-

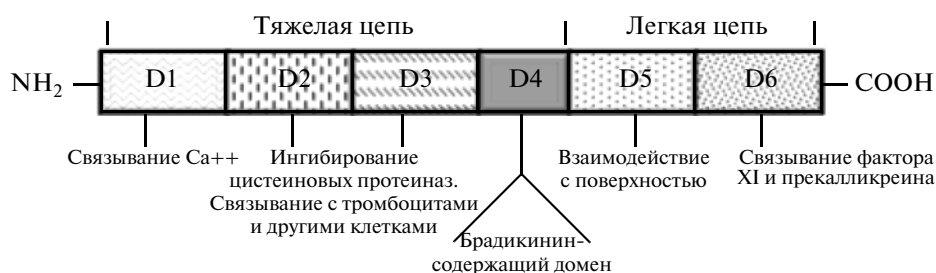


Рис. 3. Схема доменной структуры высокомолекулярного кининогена плазмы крови человека (буквами D обозначены домены, приведены функциональные характеристики доменов). D1 – фрагмент M1-A113, D2 – E114-P234, D3 – G235-L327, D4 – G328-T383, D5 – V384-K502, D6 – T503-S626.

ность всех протеолитических ферментов как генерирующих, так и разрушающих кинины, в свою очередь, контролируется целым спектром ингибиторов. Таким образом, представленные на рис. 2 механизмы регуляции активности ККС обеспечивают необходимые для осуществления физиологических эффектов стационарные концентрации всех компонентов системы, в том числе кининов [22–27].

СТРУКТУРНО-ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ СВОЙСТВА ОСНОВНЫХ КОМПОНЕНТОВ ККС

Кининогены

В плазме крови человека присутствуют кининогены двух видов: высокомолекулярный (ВМК) и низкомолекулярный (НМК), являющиеся полифункциональными гликопротеинами. Их молекулы представлены одной полипептидной цепью, синтезируются, в основном, гепатоцитами и перед секретированием в кровотоки подвергаются посттрансляционному гликозилированию [28–30]. В кровотоке ВМК циркулирует в виде двух бимолекулярных комплексов, образованных с прекалликреином (ПК) или с фактором XI свертывания крови. Молекула ВМК включает 626 а.о., имеет молекулярную массу ~120 кДа и pI 4.3 [31, 32].

Синтез кининогенов ВМК и НМК кодируется единым геном, локализованным в хромосоме 3; ген содержит 11 экзонов, причем, 9 из них образуют три триплетных экзона, каждый из которых, по данным Китакура с соавт., происходит из исходного родительского цистатинового гена [28]. Экзон 10 содержит общую для обоих кининогенов кининовую последовательность и особую С-концевую последовательность ВМК, а экзон 11 кодирует уникальную С-концевую последовательность НМК. В результате альтернативного сплайсинга первичной транскрипции кининогенового гена образуется две различные мРНК, специфичные соответственно для ВМК и НМК [29].

Единая полипептидная цепь ВМК содержит шесть доменов (рис. 3). После выщепления брадикинина под действием калликреина (расщеп-

ление связей K362-R363 и R371-S372), образуется тяжелая цепь ВМК, которая включает четыре домена (D1–D4, фрагмент 1-362), а домены D5 и D6 формируют легкую цепь (372-626).

Домен D1 (M1-A113) несет центр, связывающий Ca^{2+} , функция домена известна не полностью [33]. Домены D2 (E114-P234) и D3 (G235-L327) по первичной структуре сходны с цистатинами, поэтому кининогены относят к семейству высокомолекулярных ингибиторов цистеиновых протеиназ [34]. В структуре доменов D2 и D3 содержится высококонсервативный пентапептид QVVG, который гомологичен ингибиторам цистеиновых протеиназ, таких как папаин, катепсины В и Н, и кальпаин [35–37]. Последовательность брадикинина (R363-R371) заключена в D4-домене кининогена (G328-T383) в дисульфидной петле, фланкируемой двумя процессирующими центрами для калликреиноподобных ферментов.

ВМК может обратимо связываться, при участии Zn^{2+} , с тромбоцитами [38–40], нейтрофилами [39, 40] и эндотелиальными клетками [39–41] посредством участков, расположенных в тяжелой (D3) и легкой (D5, V384-K502) цепях [39, 41], что было показано методом электронной микроскопии или путем использования моноклональных антител к определенным антигенным детерминантам молекулы ВМК, а также мутантных молекул и их фрагментов. Так, взаимодействие ВМК (D3) с тромбоцитами (скорее всего через тромбоспондин) снижает их связывание с тромбином и подавляет тем самым агрегацию тромбоцитов, стимулированную тромбином [40, 42]. ВМК при взаимодействии с полиморфноядерными лейкоцитами (ПЯЛ) действует как антиадгезивная молекула [40, 42–44], что можно объяснить вытеснением ВМК фибриногена, связанного с интегринами α - и β 2 и Mac-1 [40, 42, 44, 45]. Кроме того, ВМК необходим при стимуляции активности ПЯЛ калликреином [45]. При этом ВМК способствует увеличению продукции свободных радикалов кислорода, дегрануляции ПЯЛ и высвобождению гранулоцитарной эластазы и лактоферрина [45].

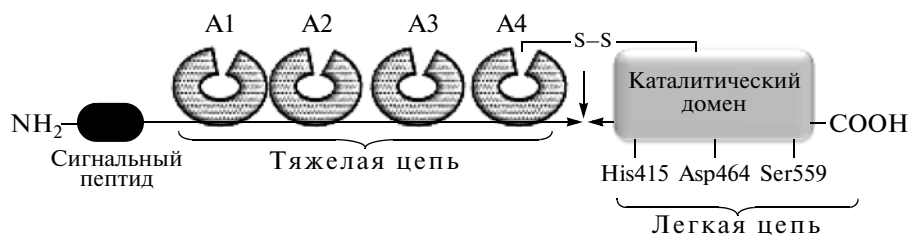


Рис. 4. Схема доменной структуры прекалликреина плазмы крови человека. “Яблоковидные” домены обозначены как A1, A2, A3 и A4. Стрелка указывает на связь, расщепляемую активной формой XII фактора свертывания крови (объяснение в тексте).

Предполагают, что связывание ВМК с эндотелиоцитами происходит через гликопротеины, идентичные рецепторам глобулярных участков C1q-компонента комплемента [40, 46]. Показано также, что ВМК взаимодействует на поверхности эндотелиальных клеток с урокиназным рецептором [46]. При связывании ВМК с эндотелиоцитами увеличивается скорость освобождения брадикинина, который в свою очередь стимулирует образование NO и простаглицина, оказывающих антитромботическое действие и вызывающих вазодилатацию [40, 47].

Расположенная в С-концевой области легкая цепь ВМК (домены D5 и D6, 243 а.о.), взаимодействуя с гидрофильной и анионной (искусственной и, возможно, природной) поверхностями, проявляет прокоагулянтную активность. Связывание с поверхностью осуществляется расположенным в домене D5 участком (G476-K502), обогащенным остатками His, Lys и Gly [44], при этом ВМК участвует в формировании контактного ансамбля белков активации плазменных протеолитических систем как неэнзиматический кофактор. Терминальный домен ВМК (D6, T503-S626) имеет центры для связывания ПК и фактора XI гемостаза.

Таким образом, ВМК может служить примером полифункциональной молекулы, особенности доменной структуры которой определяют ее роль в регуляции функций ряда белков плазмы крови и разных клеток. ВМК участвует в активации контактной фазы плазменного протеолиза, контролирует адгезию и активность тромбоцитов, ПЯЛ, эндотелиоцитов. Кроме того, ВМК подавляет активность цистеиновых протеиназ, препятствуя деградации плазменных белков при повреждении различных тканей, участвует в регуляции артериального давления, модулирует воспалительные и антитромботические реакции, включается в важную регуляторную систему взаимодействия плазменных белков с клетками крови и клетками сосудистой стенки [44].

Калликреины

Калликреины, основные кининогеназы, относятся к трипсиноподобным сериновым протеиназам и локализируются в плазме крови, в тканях органов, в основном с экзокринной функцией, и в их секретах, стенке кишечника, почках и моче, половых и потовых железах. Плазменный и тканевые калликреины различаются по физико-химическим свойствам, ингибиторному спектру и специфичности. Так, первый – щелочной белок с *pI* около 8.6 и молекулярной массой 90.76 кДа, рассчитанной по структуре гена; вторые – это кислые гликопротеины с *pI* 3.5–4.5, молекулярной массой от 24 до 40 кДа [46–49]. При этом калликреины обоих типов освобождают кинины из кининогенов.

К настоящему времени расшифрована структура плазменного калликреина и многих тканевых КЛК, активно развиваются исследования в области молекулярной биологии и в изучении роли калликреинов в регуляции кровяного давления, развитии сердечно-сосудистых, онкологических заболеваний и многих других физиологических и патогенетических процессов [49–52].

Наиболее значимыми достижениями при изучении калликреинов являются расшифровка молекулярного механизма контактной активации плазменного прекалликреина, выявление полифункциональности калликреинов, клонирование и картирование генов тканевых калликреинов и разработка подходов к генотерапии гипертонической болезни.

Прекалликреин и калликреин плазмы крови

Предшественник калликреина плазмы крови – прекалликреин (ПК) является гликопротеином, состоящим из 619 а.о. Концентрация ПК в плазме крови составляет 295–580 нМ (35–50 мкг/мл) [46, 47, 53, 54]. Синтезируется ПК в гепатоцитах в виде пропрекалликреина. Ген, кодирующий ПК, состоит из 15 экзонов и 14 интронов, локализованных в дистальной части хромосомы 4 [49, 54].

Модель доменной структуры плазменного ПК представлена на рис. 4. После отделения сигнального пептида ПК активируется путем расщепле-

ния связи Arg371-He372 активной формой фактора XII свертывания крови с образованием легкой и тяжелой цепей калликреина, связанных одной дисульфидной связью (Cys364-Cys484) [49, 55, 56]. Легкая цепь формирует каталитический домен, типичный для сериновых протеиназ с классической триадой остатков Ser, His и Asp в активном центре фермента. Тяжелая цепь состоит из четырех повторяющихся “яблоковидных” доменов. Тяжелая цепь участвует в связывании ВМК и нейтрофилов. Колман с соавт. [57] показал наличие в ПК двух участков взаимодействия с ВМК (57–86 и 262–294). ВМК и ПК связываются в соотношении 1 : 1, при этом последовательность из 31 а.о. D6-домена ВМК связывается с С-концевой частью домена А1 ПК, а С-концевая часть ВМК связывается с N-концевой частью А4-домена ПК.

Фактор XI свертывания крови, имеющий гомологичные каталитические “яблоковидные” домены, представляет собой сдвоенную молекулу ПК, связанную S–S-связями. С ВМК фактор XI свертывания крови взаимодействует аналогично ПК, но занимает в D6 ВМК-участок в два раза больший, чем с ПК.

Пути активации прекалликреина плазмы крови

В настоящее время детально расшифрован молекулярный механизм активации плазменного ПК в так называемой “контактной системе активации”, которая вызывает сложную серию реакций, запускающих протеолитические системы плазмы крови, такие как системы гемокоагуляции, фибринолиза, комплемента, калликреин-кининовая и ренин-ангиотензиновая. Интенсивные исследования контактной системы проводятся с середины 60-х годов прошлого столетия и продолжают до сих пор.

Контактная система включает четыре белка: ПК, факторы XII и XI гемокоагуляции и ВМК. Механизм взаимодействия и активации этих белков изучен на активирующей искусственной полианионной поверхности в опытах *in vitro* и на поверхности эндотелиальных клеток *ex vivo*. При этом основной процесс активации ПК с образованием КЛК происходит в обоих случаях, однако, активаторы и ансамбли белков, в присутствии которых протекает этот процесс, различаются [58–61].

Активация прекалликреина на полианионной искусственной поверхности

Хронологически активация ПК в присутствии ВМК, фактора XI и фактора XII свертывания крови на полианионной поверхности (стекло, коалин) была изучена раньше, чем на эндотелиальных клетках, и почти 50 лет рассматривалась как начало внутреннего механизма активации систе-

мы свертывания крови. В соответствии с этими представлениями с поверхностью взаимодействуют два биомолекулярных комплекса (ВМК-ПК и ВМК-фактор XI), а также отдельно фактор XII [55, 62–64]. Сорбция ПК и фактора XI осуществляется через ВМК, который связывается с поверхностью катионным участком G476-K502 D5-домена и является своеобразным якорем для зимогенов, образующих комплексы с ВМК. Фактор XII имеет центры связывания с поверхностью в N-концевой области молекулы. Сорбция на поверхности белков контактной системы создает оптимальные для их взаимодействия и активации стерическое расположение и уровень концентрации этих белков. При связывании с полианионной поверхностью фактор XII активируется в результате конформационных изменений в молекуле. Образовавшаяся активная форма фактора XII (XIIa) активирует ПК. Калликреин, в свою очередь, осуществляет активацию фактора XII, который превращает фактор XI в активную форму XIa. Фактор XIa системы активирует фактор IX свертывания крови на поверхности тромбоцитов, инициируя тем самым дальнейшие этапы внутреннего пути активации системы свертывания крови. Взаимоактивация ПК и фактора XII обеспечивает высокую скорость процесса [40, 65–67].

Экспериментальные и клинические исследования показали, что контактная активация каскадных систем плазмы крови необходима для инициирования, усиления и распространения защитных реакций. Калликреин плазмы крови помимо активации фактора XII свертывания крови активирует проферменты других систем плазмы крови и тканей: пламиноген и его активаторы, первый компонент (C1) и фактор В комплемента, фактор VII гемокоагуляции и проренин, а также стимулирует активацию нейтрофилов и влияет на функцию эндотелиоцитов либо непосредственно, либо через освобождение брадикинина [22, 26, 68, 69].

Теоретически, отрицательно заряженные поверхности, инициирующие активацию контактной системы, могут присутствовать и появляться при различных повреждениях организма. Обсуждается возможность активации ККС *in vivo* на отрицательно заряженных поверхностях при медицинской интервенции и инфицировании организма, однако убедительных доказательств этому нет. Поэтому вопрос о роли контактной системы *in vivo* остается открытым.

Более того, дефицит фактора XII, ПК и ВМК, хотя и проявляется заметным пролонгированием времени свертывания крови *in vitro*, однако не вызывает кровоточивости. На функции контактной системы вне гемокоагуляции указывает также обнаруженная в начале 90-х годов активация фактора XI под действием тромбина [70], без участия факторов контактной системы.

Недостаточность прямых доказательств активации контактной системы на полианионной поверхности *in vivo*, а также отсутствие кровоточивости при дефиците факторов системы у пациентов стимулировали поиски альтернативных механизмов активации контактной системы *in vivo*.

Кроме того, в необходимости таких поисков убедили литературные данные, позволяющие предполагать участие контактной системы в биологии сосудов [71, 72]. В частности, это касается роли системы в поддержании целостности сосудов и кровяного давления, во влиянии на многие функции эндотелиальных клеток, а также в поддержании конститутивной антикоагулянтной природы внутрисосудистого пространства [58, 60, 61].

Активация контактной системы на поверхности эндотелиальных клеток

С середины 90-х годов были предприняты попытки выявить и понять механизм активации факторов контактной системы на мембранах клеток, в частности эндотелиоцитах. В ходе этих исследований на поверхности эндотелиальных клеток были обнаружены комплексы, в составе которых присутствовали компоненты контактной системы, и была предложена новая концепция активации компонентов контактной системы на клеточных мембранах. Поиск на клеточных мембранах рецепторов для белков контактной системы и состав ансамбля белков, в котором активируются ПК и фактор XII, проводился в течение 10 лет и увенчался успехом [22, 24, 36, 40, 58].

Предложенная в результате гипотеза является альтернативной автоактивационному механизму образования фактора XIIa с последующей активацией белков калликреин-кининовой системы. В ее основу положены представления о том, что *in vivo* сборка мультибелковых комплексов контактной системы происходит на клеточных рецепторах, при этом активация ПК осуществляется без участия фактора XIIa.

Из лизатов эндотелиальных клеток удалось выделить главный белок, связывающий белки контактной системы, который был идентифицирован как цитокератин 1 (СК1). Было показано, что ВМК специфически взаимодействует с нативным или рекомбинантным СК1 в присутствии Zn^{2+} . Установлено, что центр СК1, связывающий комплекс ВМК-ПК, локализован в сегменте белка, состоящем из 20 а.о. Пептиды прикрытия связывающего центра на СК1 блокируют активацию ПК на эндотелиальных клетках, что убедительно доказывает участие СК1 в ансамбле, необходимом для активации ПК. Кроме СК1 в комплексе, связывающим ВМК с эндотелиальными клетками, участвуют рецепторы урокиназы (uPAR) и q-субъединицы первого компонента комплемента (gC1qR) [73, 74].

Поскольку легкая цепь ВМК образует комплекс с ПК или фактором XI, эти компоненты оказываются связанными с эндотелиоцитами через ВМК. Активация ПК и образование калликреина инициируют генерацию брадикинина, усиливающего в свою очередь связывание ВМК с клетками [36, 71, 72, 75, 76]. В результате изучения связывания комплекса ВМК-ПК с белками мембраны клеток было показано, что, несмотря на взаимодействие фактора XII с этим комплексом, активация ПК на эндотелиоцитах не зависит от присутствия фактора XII или его активных форм [58–61].

Таким образом, было продемонстрировано, что активация ПК является первым этапом активации ККС на эндотелиоцитах. Активация фактора XII происходит лишь после активации ПК. Условия для активации ККС создаются при образовании на поверхности эндотелиальной клетки полибелкового ансамбля, в состав которого кроме ВМК и ПК входят, как было указано выше, рецептор активатора плазминогена урокиназного типа (uPAR), рецептор q-субъединицы первого компонента комплемента (gC1qR), фактор XII и цитокератин 1 [77, 78]. В этом ансамбле ПК активируется под действием связанной с мембраной в присутствии ионов Zn^{2+} антипаинчувствительной протеиназы (MP) с образованием калликреина, который активирует фактор XII и расщепляет ВМК, при этом генерируется брадикинин, а комплекс декинированного ВМК с калликреином снимается с поверхности эндотелиоцитов [2, 79].

Поскольку фактор XI структурно очень схож с ПК (состоит из двух одинаковых молекул ПК, связанных дисульфидной связью), механизм его активации практически идентичен таковому для ПК и требует взаимодействия с ВМК на эндотелиальных клетках. Активация фактора XI с участием описанного выше ансамбля белков на эндотелиальных клетках протекает также независимо от фактора XIIa [58, 61]. Участвует ли этот механизм активации факторов XI и XII в гемостазе, в настоящее время еще неясно. Однако есть основания полагать, что подобный механизм активации ПК может осуществляться на многих клетках, мембраны которых связывают комплекс ПК-ВМК, и это свидетельствует о важной роли ПК и ККС в целом в биологии клеток и контроле реологических свойств крови и других ее функций. Так, известно, что генерирование брадикинина является критическим событием в регуляции артериального давления и модулировании многих других процессов, определяющих функции сосудов. В том числе брадикинин стимулирует освобождение тканевого активатора плазминогена (tPA) эндотелиальными клетками, внося важный вклад в фибринолиз. Показано, что КЛК является кинетически благоприятным активатором проурокиназы [40] и тем самым включается в процессинг урокиназы и, соответственно, в акти-

вацию фибринолиза. Калликреин, образующийся в результате активации ПК, обладает широким спектром биорегулирующих функций, о которых подробнее речь пойдет ниже. Гидролизует две пептидные связи в ВМК, КЛК освобождает брадикинин, который, в свою очередь, контролирует множество физиологических и патогенетических процессов, включая регуляцию функций эндотелиальных клеток.

Образовавшийся в контактной системе тем или иным путем калликреин плазмы крови кроме кининогеназной функции и участия в регуляции активности других протеолитических систем стимулирует активацию полиморфноядерных лейкоцитов, при этом из азурофильных гранул высвобождается эластаза и активируется латентная коллагеназа [26, 27, 40, 80–82]. Так, многочисленные экспериментальные и клинические исследования свидетельствуют об участии ККС в патогенезе острого и хронического воспаления, шока различной этиологии, диабета, аллергии, тромбогеморрагических нарушений, в том числе диссеминированного внутрисосудистого свертывания крови, онкологических заболеваний и других патологических состояний организма [24, 26, 46, 72, 74].

Патогенетические функции калликреина плазмы крови наиболее ярко проявляются при недостаточности его ингибиторов. В плазме крови активность калликреина контролируют, главным образом, инактиватор первого компонента комплемента (ИС1), α_2 -макроглобулин и в меньшей степени – антитромбин III (в комплексе с гепарином), а также ингибитор протеина С (рис. 2) [83, 84].

Повреждение факторов и нарушение функций контактной системы было выявлено при изучении действия ПЯЛ на высокоочищенные препараты факторов XII, XIIa, ПК, калликреина и ВМК, выделенных из плазмы крови [26, 27, 81, 82].

Полученные нами данные о характере взаимодействия полиморфноядерных лейкоцитов и компонентов контактной системы подтверждаются многочисленными клиническими наблюдениями, свидетельствующими об увеличении активации ПК в зависимости от тяжести воспалительного процесса, а затем о резком снижении активности калликреина и ПК при неуклонном возрастании активности гранулоцитарной эластазы в терминальной стадии патологического процесса, особенно в тяжелых случаях с неблагоприятным исходом [26, 27, 38, 54, 81, 82, 85, 86]. Есть основания полагать, что не только истощение вызывает снижение уровня факторов контактной системы, но и их протеолитическое повреждение под действием эластазы. Возможность деградации факторов контактной системы была продемонстрирована при действии эластазы на ВМК. Иммуноэлектрофоретическое определение

кининогена и его фрагментов в цитратной плазме после добавления эластазы подтвердило, что деградация кининогена происходит, несмотря на присутствие $\alpha 1$ -протеиназного ингибитора [82].

Таким образом, в процессе многолетних исследований контактной системы был установлен состав ансамблей белков этой системы, детально изучены их структурно-функциональные свойства и белок-белковые взаимодействия как на искусственной поверхности, так и на эндотелиальных клетках. В первом случае активатором ПК выступает фактор XIIa, во втором – цинкзависимая мембранная протеиназа. Структура и функции белков контактной системы могут быть нарушены под действием протеиназ, освобождаемых клетками крови и других тканей при патологических состояниях.

Тканевые калликреины

Тканевые калликреины широко распространены в организме млекопитающих и встречаются, главным образом, в тканях с экзокринной функцией и их секретах, а также в эндотелии, миокардиоцитах, в центральной нервной системе и периферических нервах. В последние годы появилось множество работ, обобщающих многочисленные исследования по структуре, функциям и молекулярной биологии различных тканевых калликреинов [24, 27, 87]. Несмотря на отличия по субстратной специфичности, гидролитическому потенциалу, тканевой локализации, гормональной или иной регуляции, различные тканевые калликреины имеют много гомологичных структурных элементов [22, 23, 54].

Тканевые калликреины кодируются генами, локализованными в дистальной области хромосомы 19q (3.4). В настоящее время описано 15 генов (*KLK*) и 15 тканевых калликреинов (*hK*), а с учетом сплайсинговых вариантов мРНК насчитывается уже 70 форм тканевых калликреинов. На рис. 5 представлена обобщенная модель структуры гена и полипептидной цепи тканевых калликреинов, построенная на основе сравнительного анализа структуры 10 различных тканевых калликреинов. По данным рентгеноструктурного анализа наиболее консервативные участки располагаются во внутренних областях молекул, особенно в районе субстратсвязывающего кармана. Структурной особенностью изученных тканевых калликреинов, отличающей их от других сериновых протеиназ, является наличие “калликреиновой петли”, окружающей щель активного центра, что определяет более ограниченную субстратную специфичность калликреинов по сравнению с трипсином. Наиболее вариабельные участки калликреинов расположены в наружной части молекул, что обуславливает их различную субстратную специфичность.

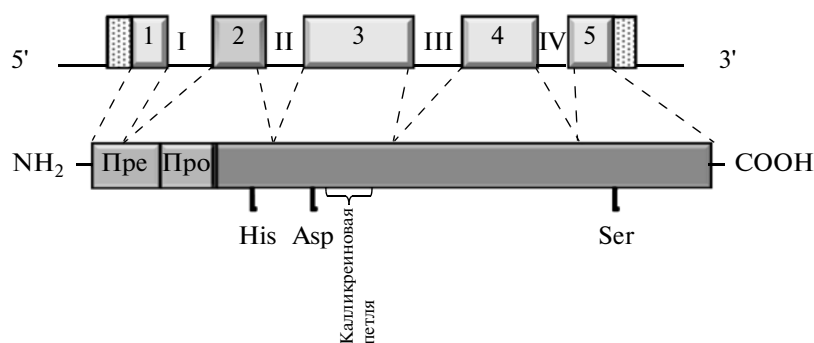


Рис. 5. Модель структуры гена и полипептида тканевых калликреинов. Арабскими цифрами обозначены экзоны, римскими — интроны. Пре- и пропептидные фрагменты в предшественниках калликреинов. Показана локализация калликреиновой петли.

Изучена структура генов тканевых калликреинов. Все они имеют по 5 экзонов и в значительной степени структурно гомологичны. Уже клонировано более 100 генов грызунов и около 30 генов человека, кодирующих калликреины. Получены моноклональные антитела к различным калликреинам, синтезированы гены с различными мутациями, а также гены-химеры [88–90].

Семейство генов тканевых калликреинов человека содержит два тесно связанных и в значительной степени гомологичных подсемейства (табл. 1): подсемейство А, включающее калликреины, кодируемые генами *KLK(4-14)*, и подсемейство В специфического простатического антигена (*KLK3*), в которое входят также продукты генов *KLK1*, *KLK2* и *KLK15*; первое считается с дистального конца хромосомы, второе — от центромеры [91].

Множество исследований посвящено изучению роли тканевых калликреинов в организме, однако специфические функции отдельных представителей этого семейства протеиназ недостаточно выяснены. Благодаря процессированию кининов и других регуляторных пептидов, тканевые калликреины вовлечены в поддержание регионального и системного кровяного давления, репродуктивные функции, воспалительные реакции и многие другие процессы адаптации и защиты [11, 90]. Сейчас особое внимание уделяется участию тканевых калликреинов в регуляции пролиферации клеток и развитии опухолевых процессов [88]. Известно, что ферменты семейства калликреинов вовлечены в процессирование большого числа регуляторных пептидов, в том числе факторов роста [89]. Есть сведения о локальном образовании тканевого калликреина в сосудистой стенке, найдена мРНК этого

Таблица 1. Тканевые калликреины как маркеры злокачественных и других заболеваний

ГЕН	Подсемейство	ЗАБОЛЕВАНИЕ
<i>KLK 1</i>	В	Рак молочной железы, воспаление, сепсис, панкреатиты, заболевания сердца, почек, костной ткани
<i>KLK 2</i>	В	Рак молочной железы, рак простаты
<i>KLK 3</i>	В	Рак молочной железы, рак простаты, ремоделирование ткани
<i>KLK 4</i>	А	Рак яичников, деградация зубной эмали
<i>KLK 5</i>	А	Рак яичников (агрессивные формы)
<i>KLK 6</i>	А	Рак молочной железы, рак яичников, болезнь Альцгеймера и другие амилоидозы
<i>KLK 7</i>	А	Рак яичников, патологическая кератинизация, псориаз
<i>KLK 8</i>	А	Рак яичников, эпилепсия, демиелинизация ЦНС и периферической НС
<i>KLK 10</i>	А	Рак молочной железы, рак простаты, рак поджелудочной железы, острый лимфолейкоз
<i>KLK 11</i>	А	Заболевания ЦНС и простаты
<i>KLK 12</i>	А	Рак молочной железы, рак яичников
<i>KLK 13</i>	А	Рак молочной железы, ремоделирование ткани
<i>KLK 14</i>	А	Рак молочной железы, гиперплазия простаты, заболевания мышц
<i>KLK 15</i>	В	Рак простаты (агрессивные формы)



Рис. 6. Регуляторные функции тканевых калликреинов. ММП – матриксные металлопротеиназы, ТМСП2 – транс-мембранная сериновая протеиназа 2, уАП – урокиназный активатор плазминогена.

фермента, что подтверждает его важную роль в регуляции сосудистого гомеостаза [48, 87].

Тканевые калликреины взаимодействуют с другими протеиназами клеток. Так, образование брадикинина при воспалении сопровождается освобождением лейкоцитарных протеиназ, в том числе коллагеназ и желатиназы, предшественники которых быстро активируются тканевыми калликреинами и катепсином G [92]. Наиболее известные биорегулирующие функции тканевых калликреинов приведены на рис. 6.

В отличие от плазменного калликреина механизм активации предшественников тканевых калликреинов практически не изучен, а для калликреинов почек и слюнных желез предшественники вообще не известны. Регуляция активности тканевых калликреинов осуществляется под действием эндогенных тканевых и плазменных серпинов, среди которых наиболее известны α_1 -антитрипсин и инактиватор протеина С [48, 54, 93].

Значимыми достижениями последних лет в изучении тканевых калликреинов является прямое введение гена человеческого тканевого калликреина спонтанно-гипертензивным крысам и открытие главного ингибитора тканевого калликреина – каллистатины [94].

Интенсивные исследования в области генетики и молекулярной биологии тканевой ККС позволили создать модельные системы для изучения генетических основ гипертензии и роли ККС в регуляции артериального давления. В частности, создана уникальная модель, обеспечивающая высокий уровень тканевого калликреина в кровотоке. Для этого ген тканевого калликреина человека

был помещен под контроль усилителя промотора альбуминового гена мыши, трансген сконструирован в плазмиде и затем введен в печень гипертензивных крыс [95]. Показано, что введение этого гена приводит к секретированию калликреина в кровь трансгенных мышей и, соответственно, к снижению артериального давления. Разрабатывается система генной терапии гипертензии у человека [25]. Проводятся исследования кодирующих ДНК и клонирование генов тканевых калликреинов, каллистатинов, кининогенов и рецепторов брадикинина B1 и B2. Эти исследования позволили также существенно продвинуться в понимании роли ККС. В последние годы тканевые калликреины рассматриваются как маркеры развития гормонозависимого рака различных органов и других заболеваний (табл. 1) [25, 96].

Рецепторы брадикинина и их функции

Прогресс в изучении функций ККС даже после детального исследования структуры и роли основных компонентов этой системы был существенно затруднен из-за нестабильности пространственной структуры кининов *in vivo*, чрезвычайной подвижности всей системы и множества взаимодействий с другими системами регуляции.

Серьезный прорыв, изменивший это положение, произошел в 80-х годах, когда стало известно об антагонистах брадикинина. Доступность селективных конкурентных и обратимых антагонистов брадикинина позволила понять, что ККС участвует в регуляции таких важнейших физиологических систем как адаптация, защита, рост и

Таблица 2. Биологические эффекты кининов и их рецепторы

Эффект	ТКАНИ/КЛЕТКИ	РЕЦЕПТОРЫ
Вазодилатация	Артериолы	B2, B1
Проницаемость капилляров	Капилляры	B2
Веноконстрикция	Вены	B2, B1
Освобождение гистамина	Тучные клетки	B2
Освобождение простагландинов	Клетки различных типов	B2, B1
Боль	Сенсорные нервы	B2
Миграция клеток	Полиморфноядерные лейкоциты, лимфоциты	B2
Репарация тканей	Фибробласты	B2, B1
Бронхоконстрикция	Бронхиолы	B2, B1
Инсулиноподобное действие	Клетки периферических тканей	B2, B1

размножение клеток, регуляция артериального давления, функция почек и многие другие. В результате свойства брадикинина, а именно способность расширять просвет периферических и коронарных сосудов, снижать АД, повышать проницаемость капилляров, сокращать гладкую мускулатуру бронхов и других органов, стимулировать диапедез лейкоцитов и вызывать болевой эффект, были в значительной степени объяснены на молекулярном и клеточном уровне и существенно дополнены другими эффектами брадикинина. Было показано, что брадикинин освобождает гистамин из тучных клеток, стимулирует синтез и освобождение простагландинов и фактора некроза опухолей, а также ряда интерлейкинов в различных тканях, способствует процессам репарации и обладает инсулиноподобным действием, стимулируя захват глюкозы периферическими тканями, модулирует передачу нервных импульсов в ЦНС и периферической нервной системе, изменяет состояние гематоэнцефалического барьера [23, 25]. Благодаря этим свойствам брадикинин участвует в периферической регуляции кровяного давления и широком спектре физиологических и патофизиологических эффектов, и особенно в развитии воспаления [22, 23, 68, 69].

Многообразные фармакологические эффекты брадикинин осуществляет при взаимодействии, по крайней мере, с двумя различными специфическими рецепторами, названными B1 и B2 (рис. 2) [23, 51]. Основные биологические функции брадикинина и локализация его рецепторов в организме представлены в табл. 2. Из таблицы видно, что большинство эффектов брадикинин осуществляет через B2-рецепторы, которые конститутивно экспрессируются в различных тканях. При связывании с брадикинином B2-рецепторы проявляют не только указанные выше эффекты, но участвуют также в развитии боли и воспаления, особенно в дыхательных путях и при кардиоваскулярной ишемии [51]. Взаимодействие брадикинина с ин-

дуцибельными B1-рецепторами вызывает гиперальгезию, связанную с хроническим воспалением. Оба рецептора сходны по структуре, имеют по 7 трансмембранных доменов, сопряженных с G-белками. Более того, сходны механизмы трансдукции сигнала при взаимодействии B2 с брадикинином или каллидином и B1 с des-Arg⁹- и des-Arg¹⁰-производными соответственно брадикинина и каллидина. Активация рецепторов B2 и B1 приводит к мобилизации внутриклеточного Ca²⁺ с последующим активированием протеинкиназы C, запускающей каскад передачи сигнала внутри клетки через вторичные мессенджеры, такие как оксид азота (NO), циклический гуанозинмонофосфат, фосфоинозитолы, простагландины. Образование этих мессенджеров в эндотелиальных клетках и поступление их в гладкомышечные клетки обеспечивает процесс сосудистой релаксации [23].

Антагонисты брадикинина, эффективно взаимодействующие с рецепторами B1 и B2, уже используются в терапии ринитов, бронхитов, астмы, септического шока, травмы головы, онкологических заболеваний [23, 97]. На рис. 7 обобщены сведения о роли брадикинина в физиологических и патологических процессах.

Кининазы

Период полужизни брадикинина в большом круге кровообращения равен 17–24 с, еще быстрее он разрушается в малом круге кровообращения. Это обусловлено наличием в крови и тканях высокоактивных ферментов — кининаз, осуществляющих физиологический контроль уровня кининов. Многочисленная группа кининаз представлена металлоферментами, гидролизующими отдельные пептидные связи в молекуле брадикинина и тем самым переводящими его в неактивные продукты; расщепление любой из восьми пептидных связей приводит к полной или частичной инактивации брадикинина. Наиболее важную

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

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Frey E.K. // Arch. Klin. Chir. 1926. V. 142. P. 663–669.
2. Frey E.K., Kraut H. // Hoppe-Seyler's Z. Physiol. Chem. 1926. V. 157. P. 32–61.
3. Kraut H., Werle E., Bauer E. // Hoppe-Seyler's Z. Physiol. Chem. 1928. V. 175. P. 97–114.
4. Kraut H., Frey E.K., Werle E. // Hoppe-Seyler's Z. Physiol. Chem. 1930. V. 192. P. 1–21.
5. Frey E.K., Kraut H. // Arch. Exp. Pathol. Pharmacol. 1928. V. 133. P. 1–56.
6. Frey E.K., Kraut H., Schultz F. // Arch. Exp. Pathol. Pharmacol. 1930. V. 158. P. 334–347.
7. Kraut H., Frey E.K., Werle E. // Hoppe-Seyler's Z. Physiol. Chem. 1930. V. 189. P. 97–106.
8. Frey E.K., Kraut H., Werle E. // Kallikrein-Padutin / Eds. Frey E.K., Kaut H., Werle E. Stuttgart, F. Enke-Verlag, 1950.
9. Werle E., Kehl R., Koebke K. // Biochem. Z. 1950. V. 320. P. 327–383.
10. Werle E. // Arch. Int. Pharmacodyn. Ther. 1953. V. 92. P. 427–431.
11. The kallikrein-kinin system in health and disease / Eds. Fritz H., Schmidt I., Dietze G. Limbch-Verlag Braunschweig 1989.
12. Rocha E., Silva M., Beraldo W.T., Rosenfeld G. // Am. J. Physiol. 1949. V. 156. P. 261–273.
13. Werle E., Maier L., Ringelmann E. // Naturwissenschaften. 1953. V. 39. P. 338.
14. Habal F., Movat H.Z. // Semin. Thromb. Haemost. 1976. V. 3. P. 27–42.
15. Boissonnas R.A., Guttman St., Jaquenoud P.A. // Helv. Chim. Acta. 1960. V. 43. P. 1349–1358.
16. Pierce J.V., Webster V.E. // Biochem. Biophys. Commun. 1961. V. 5. P. 353–357.
17. Frey E.K., Kraut H., Werle E. // Das Kallikrein-Kinin-System und sein Inhibitoren. Stuttgart, F. Enke-Verlag, 1968.
18. Vogel R., Trautschold I., Werle E. // Natürliche Proteinase-Inhibitoren. Stuttgart, G. Thieme Verlag, 1966.
19. Schachter M., Uchida Y., Longridge D., Labeledz T., Whalley E., Vavrek R., Stewart J. // Br. J. Pharmacol. 1987. V. 92. P. 851–855.
20. Colman R.W., Schapira M., Scott C.F. // Ann. N.Y. Acad. Sci. 1981. V. 370. P. 261–270.
21. Auerswald E., Horlein D., Reinhardt G., Schroder W. // Biol. Chem. Hoppe-Seyler Suppl. 1988. V. 369. P. 27–35.
22. Schmaier A.H. // Int. Immunopharmacol. 2008. V. 8. P. 161–165.
23. Sharma J.N., Al-Sherif G.J. // Scientific World J. 2006. V. 6. P. 1247–1261.
24. Sainz I.M., Pixley R.A., Colman R.W. // Thromb. Haemost. 2007. V. 98. P. 77–83.
25. Borgono C.A., Michael I.P., Diamandis E.P. // Mol. Canc. Res. 2004. V. 2. P. 257–280.
26. Яровая Г.А., Блохина Т.Б., Нешкова Е.А. // Биохимия. 2002. Т. 67. 16–29.
27. Яровая Г.А. // Вопросы мед. химии. 2001. Т. 47. P. 20–42.
28. Kitamura N., Kitagawa H., Fukushima D., Takagaki Y., Miyata T., Nakanishi S. // J. Biol. Chem. 1985. V. 260. P. 8610–8617.
29. Müller-Esterl W., Fritz H., Machleidt W., Ritonjga A., Brzin J., Kotnik M., Turk V., Kellermann J., Lottspeich F. // FEBS Lett. 1985. V. 182. P. 310–314.
30. Gustafson E.J., Schutsky D., Knight L.C., Schmaier A.H. // J. Clin. Invest. 1986. V. 78. P. 310–318.
31. Bradford H.N., Jameson B.A., Adam A.A., Wassell R.P., Colman R.W. // J. Biol. Chem. 1993. V. 268. P. 26546–26551.
32. Colman R.W., Marder V.J. // Hemostasis and Thrombosis. Basis Principles and Clinical Practice/ 5th ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2006. P. 109–113.
33. Herwald H., Hasan A.A.K., Godovac-Zimmermann J., Schmaier A.H., Müller-Esterl W. // J. Biol. Chem. 1995. V. 270. P. 14634–14642.
34. Van Iwaarden F., de Groot P.G., Sixma J.J., Berrettini M., Bouma B.M. // Blood. 1988. V. 71. P. 1268–1276.
35. Gustafson E., Lukasiewicz H., Wachtvogel Y., Norton K., Schmaier A., Niewarowski S., Colman R. // J. Cell Biol. 1989. V. 109. P. 377–387.
36. Colman R.W., Pixley R.A., Najamunnisa S., Yan W., Wang J. // J. Clin. Invest. 1997. V. 100. P. 1481–1487.
37. Wachtvogel Y.T., DeLa Cadena R.A., Kunapuli S.P., Rick L., Miller M., Schultze R.L., Altieri D.C., Edgington T.S., Colman R.W. // J. Biol. Chem. 1994. V. 269. P. 19307–19312.
38. Lalmanach G., Naudin C., Lecaille F., Fritz H. // Biochimie. 2010. V. 92. P. 1568–1579.
39. Herwald H., Dedio J., Kellner R., Loos M., Müller-Esterl W. // J. Biol. Chem. 1996. V. 271. P. 13040–13047.
40. Guo Y.-L., Colman R.W. // Thromb. Haemost. 2005. V. 3. P. 670–676.
41. Colman R.W. // Adv. Exp. Med. Biol. 1990. V. 281. P. 195–120.
42. D'Orleans-Juste P., de Nucci G., Vane J.P. // Br. J. Pharmacol. 1989. V. 96. P. 920–926.
43. Kunapuli S.P., deLa Cadena R.A., Colman R.W. // J. Biol. Chem. 1993. V. 268. P. 2486–2492.

44. *Schmaier A.H., Schutsky D., Farber A., Silver L.D., Bradford H.N., Colman R.W.* // J. Biol. Chem. 1987. V. 262. P. 1405–1411.
45. *DeLa Cadena R., Colman R.* // Protein Sci. 1992. V. 1. P. 151–160.
46. *Schmaier A.H., Silverberg M., Kaplan A.P., Colman R.W.* // Hemostasis and Trombosis. 1987. V. 58. P. 18–37.
47. *Page J.D., Colman R.W.* // J. Biol. Chem. 1991. V. 26. P. 8143–8148.
48. *Schmitt M., Renne T., Scorilas A.* // Thromb. Haemost. 2013. V. 110. P. 396–398.
49. *Bjorkqvist J., Jamsa A., Renne T.* // Thromb. Haemost. 2013. V. 110. P. 399–407.
50. *Sharma J.N.* // ScientificWorldJornal. 2008. V. 8. P. 384–393.
51. *Kayashima Y., Smithies O., Kakoki M.* // Curr. Opin. Nephrol. Hypertens. 2012. V. 21. P. 92–97.
52. *Borgono C., Diamandis E.P.* // Nat. Rev. Cancer. 2004. V. 4. P. 876–890.
53. *Beaubien G., Rosinski-Chupin I., Mattei M.G., Mbikay M., Chretien M., Siedan N.G.* // Biochemistry. 1991. V. 30. P. 1628–1635.
54. *Pathak M., Wong S. S., Dreveny I., Emsley J.* // Thromb. Haemost. 2013. V. 110. P. 423–433.
55. *Colman R.W.* // Immunopharmacol. 1996. V. 32. P. 9–18.
56. *Schmaier A.* // J. Clin. Invest. 2008. V. 118. P. 3006–3009.
57. *Page J.D., Yen J.L., Harris R.B., Colman R.W.* // J. Biol. Chem. 1994. V. 266. P. 8143–8148.
58. *Colman R.W., Schmaier A.H.* // Blood. 1997. V. 90. P. 3819–3843.
59. *Schmaier A.H., Kuo A., Lundberg D., Myrray S., Cines D.B.* // J. Biol. Chem. 1988. V. 263. P. 16327–16333.
60. *Rojkar R., Schmaier A.H.* // Proc. Assoc. Am. Phys. 1999. V. 111. V. 220–227.
61. *Schmaier A.H., Rojkaer R.* // Thromb. Haemostasis. 1999. V. 82. P. 226–233.
62. *Davie E.W., Fujikawa K., Kisiel W.* // Biochemistry. 1991. V. 30. P. 10363–10370.
63. *Retxios A.D., Rosenfeld R., Schiffman S.* // J. Biol. Chem. 1987. V. 262. P. 3074–3081.
64. *Tayeh M.A., Olson S.T., Shore J.D.* // J. Biol. Chem. 1985. V. 260. P. 10856–10863.
65. *Fujikawa K., Heimark R.L., Kurachi K., Davie E.W.* // Biochemistry. 1980. V. 19. P. 1322–1329.
66. *Lenich C., Pannell R., Gurewich V.* // Thromb. Haemostasis. 1995. V. 74. P. 698–703.
67. *Tans G., Rosing J.* // Sem. Thromb. Hemost. 1987. V. 13. P. 25–35.
68. *Colman R.W.* // Agent. Action. Suppl. 1993. V. 42. P. 125–143.
69. *Westermann D., Walther T., Savvatis K.* // Diabetes. 2009. V. 58. P. 1373–1381.
70. *Gailani D., Broze G.J.* // Science. 1991. V. 253. P. 909–912.
71. *Schmaier A.H.* // Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol. 2003. V. 285. P. 1–13.
72. *Marcondes S., Antunes E.* // Current Medicinal Chemistry. 2005. V. 3. P. 33–44.
73. *Herwald H., Dedio J., Kellner R., Loos M., Mueller-Esterl W.* // J. Biol. Chem. 1996. V. 273. P. 1551–1555.
74. *Joseph K., Ghebrehwet B., Peerschke E.I.B., Reid K.B.M., Kaplan A.P.* // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 1996. V. 93. P. 8552–8557.
75. *Ghebrehwet, B., Lim, B.-L., Kumar, R., Feng, X. and Peerschke, E.I.B.* // Immunol. Rev. 2001. V. 180. P. 65–77.
76. *Sotiropoulou G., Pampalakis G.* // Biol. Chem. 2010. V. 391. P. 321–331.
77. *Dedio J., Jahnen-Dechent W., Bachmann M., Muller-Esterl W.* // J. Immunol. 1998. V. 160. P. 3534–3542.
78. *Van den Berg R.H., Prins F., Faber-Krol M.C., Lynch N.J., Schwarble W., Van Es L.A., Daha M.R.* // J. Immunol. 1998. V. 158. P. 3909–3916.
79. *Zini J.M., Schmaier A.H., Cines D.B.* // Blood. 1993. V. 81. P. 2936–2946.
80. *Яровая Г.А., Нешкова Е.А., Блохина Т.Б., Кочергин С.А., Воробьева И.В., Гугинешвили Д.Н.* // Вестник офтальмологии. 2012. Т. 128. С. 71–78.
81. *Dotsenko V.L., Neshkova E.A., Yarovaya G.A.* // Agent and action. Supl. 1992. V. 38/II. P. 144–156.
82. *Доценко В.Л., Нешкова Е.А., Ругнес Э., Йохансен Х., Блохина Т.Б., Яровая Г.А.* // Вопр. мед. химии. 2001. Т. 47. С. 20–25.
83. *Schapira M.* // Seminars in Thrombosis and Hemostasis. 1987. V. 13. P. 69–78.
84. *Espana F., Estelles A., Griffin J.H., Aznar J.* // Thromb. Hemost. 1991. V. 65. P. 46–51.
85. *Kashuba E., Bailey J., Allsup D., Cawkwell L.* // Biomarkers. 2013. V. 18. P. 279–296.
86. *Feener E. P., Zhou Q., Fickweiler W.* // Thromb. Haemost. 2013. V. 110(3). P. 434–441.
87. *Carretero O.A.* // J. Clin. Invest. 2005. V. 115. P. 588–591.
88. *Mignatti P., Rifkin D.B.* // Physiol. Rev. 1993. V. 73. P. 161–195.
89. *Murray S.R., Chao J., Chao L.* // Agent Action. 1992. Supl. 38 (1). P. 26–33.
90. *Brady A., MacDonald R.J.* // Arch. Biochem. Biophys. 1990. V. 278. P. 342–349.
91. *Prado E., Juliano L.* // Adv. Exp. Med. Biol. 1986. V. 198. P. 241–247.
92. *Lopes-Martis H., Antunes E., Oliva M.* // Br. J. Pharmacol. 1994. V. 113. P. 81–86.
93. *Koumandou V.L., Scorilas A.* // PLoS ONE. 2013. V. 8(7). e68074. doi: 10.1371/journal.pone.0068074.
94. *Chao J., Chai K., Chao L.* // Immunopharmacol. 1996. V. 32. P. 67–72.
95. *Wong J., Chao J., Chao L.* // J. Clin. Invest. 1995. V. 95. P. 1710–1716.
96. *Clements J.A.* // Tissue Kallikrein–Kinin System. Handbook of Physiol. The Endocrine System, Endocrine Regulation of Water and Electrolyte Balance. 2011.

97. *Marceau F., Regoli D.* // Nature Rev. Drug Discovery. 2004. V. 3. P. 845–852.
98. *Skidgel R.A.* // J. Cardiovasc. Pharmacol. 1992. V. 20. P. 54–59.
99. *Sharma J.N.* // Current Hyperten. Reports. 2009. V. 11. P. 178–181.
100. *Доценко В.Л., Демидова Т.Ю., Нешкова Е.А., Аметов А.С., Яровая Г.А.* // Вопросы мед. химии. 1998. Т. 44. С. 203–212.
101. *Agostoni A., Cugno M.* // Recent. Prog. Med. 2001. V. 92. P. 764–773.
102. *Golias C., Chrobopoulos A., Stagikas D., Charolabopoulos K., Batistatus A.* // Hippokratia. 2007. V. 11. P. 124–128.

Kallikrein-Kinin System. Long History and Present. (To 90th Anniversary of Discovery of the System)

G. A. Yarovaya[#], E. A. Neshkova

[#]Phone: +7 (499) 255-01-38; fax: +7 (495) 945-24-15; e-mail: acadbio@mail.ru

*Russian Medical Academy of Postgraduate Education,
ul. Barrikadnaya 2/1, str. 1, Moscow, 123995 Russia*

The kallikrein-kinin system (KKS) is the key proteolytic system participating in control of a wide spectrum of physiological functions and the development of many pathological conditions. This explains great interest in structures, functions and molecular biology of separate components of the system, molecular mechanisms of their interaction and relationship with other regulatory systems. The information in this field for the last two decades clarifies the role of KKS in morphogenesis of cells, regulation of smooth muscular contractility of some organs, decrease of blood pressure, increase of vascular permeability, the development of inflammation, transformation of cells and the other functions of both physiological and pathological processes. Essential progress in understanding of functions KKS was made by the discovery and study of bradykinin receptors, cloning of kininogen and kallikrein encoding genes, revealing of domain structure of kininogen, prekallikrein and some kininases and decoding of mechanisms of contact phase of proteolytic system activation in blood plasma.

Keywords: the history of discovery of system, KKS of plasma, contact system, bradykinin, receptors of bradykinin, tissular KKS