

ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

СТРУКТУРА И БИОЛОГИЧЕСКАЯ РОЛЬ NHE1. ФАРМАКОЛОГИЧЕСКАЯ РЕГУЛЯЦИЯ ЕГО АКТИВНОСТИ

А. А. Спасов, Н. А. Гурова, М. В. Харитонов¹

NHE1 является основной изоформой, экспрессируемой в сердце. NHE1 регулирует кислотно-основной гомеостаз рН, клеточную адгезию, миграцию, пролиферацию и апоптоз. Ишемическая активация обменника в миокарде в конечном счете вызывает кальциевую внутриклеточную перегрузку, усугубляющую повреждение клеток при ишемии-реперфузии. Исследования на животных показали, что селективное ингибирование NHE1 обменника сарколеммы может отсрочить прогрессирование поврежденных во время ишемии, тем самым ограничивая миокардиальный некроз и улучшая восстановление желудочковой функции при реперфузии. Проводятся доклинические и клинические испытания ингибиторов NHE1, которые могут оказаться полезными в лечении этих состояний. В настоящее время международная база данных Thomson Reuters Integrity насчитывает 481 ингибитор NHE. Цель обзора — обобщить данные исследований по фармакологии ингибиторов NHE1 и о перспективах их дальнейшего клинического применения.

Ключевые слова: Na^+/H^+ -обменник (NHE); ингибиторы NHE; кардиопротекция; ишемия; гипертрофия миокарда

Метаболические сдвиги в кардиомиоцитах, сопровождающие многие заболевания сердечно-сосудистой системы, имеют важное патогенетическое значение и нередко являются определяющими для прогноза заболевания. Современные подходы цитопротекции направлены на восполнение в клетке дефицита макроэргических соединений, энергетических субстратов, витаминов, катионов, ферментативной активности, пластического материала, интенсификацию процессов энергообразования, нормализацию рН и электролитного обмена [1, 4 – 12, 15, 23].

Основным механизмом устранения или ослабления внутриклеточного ацидоза в условиях ишемии является активация мембранных Na^+/H^+ обменников (NHE). Дополнительным механизмом является $\text{Na}^+/\text{HCO}_3^-$ -симпорт (NBS), направленный внутрь клетки и обеспечивающий поступление в клетку бикарбоната. При этом относительный вклад NHE в процесс ликвидации внутриклеточного ацидоза составляет 60 – 70 %, NBS — 30 – 40 % [6].

В физиологических условиях Na^+/H^+ -обменник выполняет электронейтральную замену одного внутриклеточного иона H^+ на один внеклеточный ион Na^+ .

При обратимой ишемии происходит увеличение внутриклеточной концентрации ионов Ca^{2+} . Оно является результатом накопления внутриклеточных протонов, которые выводятся из клеток через Na^+/H^+ -обменник сарколеммы в обмен на вход ионов Na^+ . Возраста-

ние внутриклеточного содержания ионов Na^+ в свою очередь активирует $3\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ -реверсионный обмен (NCE-обменник) через сарколемму, инициируя вход ионов Ca^{2+} в кардиомиоциты. Возникает “ Ca^{2+} -перегрузка” (рис. 1). Реперфузия усугубляет повреждение, возникшее во время ишемии. Во время реперфузии концентрация внеклеточных протонов быстро снижается, формируется большой градиент вне/внутриклеточных протонов, что ведет к росту уровня кальция и реперфузионным аритмиям, контрактурам кардиомиоцитов, некрозу [5, 6, 9, 10, 16, 19, 21, 33].

Известно девять различных типов Na^+/H^+ белков-обменников, которые были клонированы из тканей

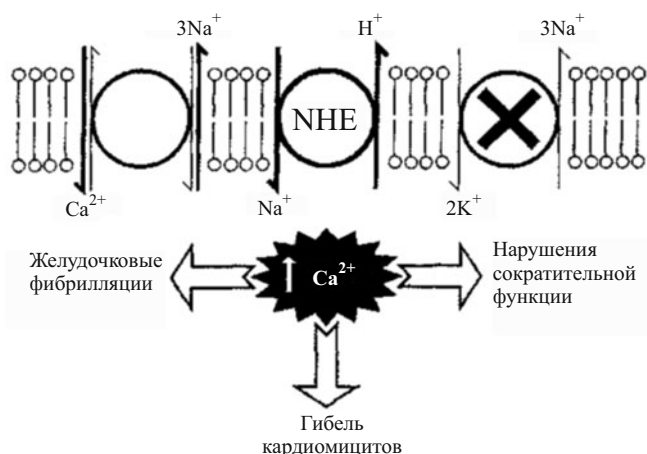


Рис. 1. Возможная последовательность событий, происходящих в миокарде при ишемии и реперфузии с участием Na^+/H^+ обменника [9, 10].

¹ Кафедра фармакологии (зав. — акад. РАМН А. А. Спасов) ГБОУ ВПО “Волгоградский государственный медицинский университет”, 400131, Волгоград, пл. Павших борцов, 1.

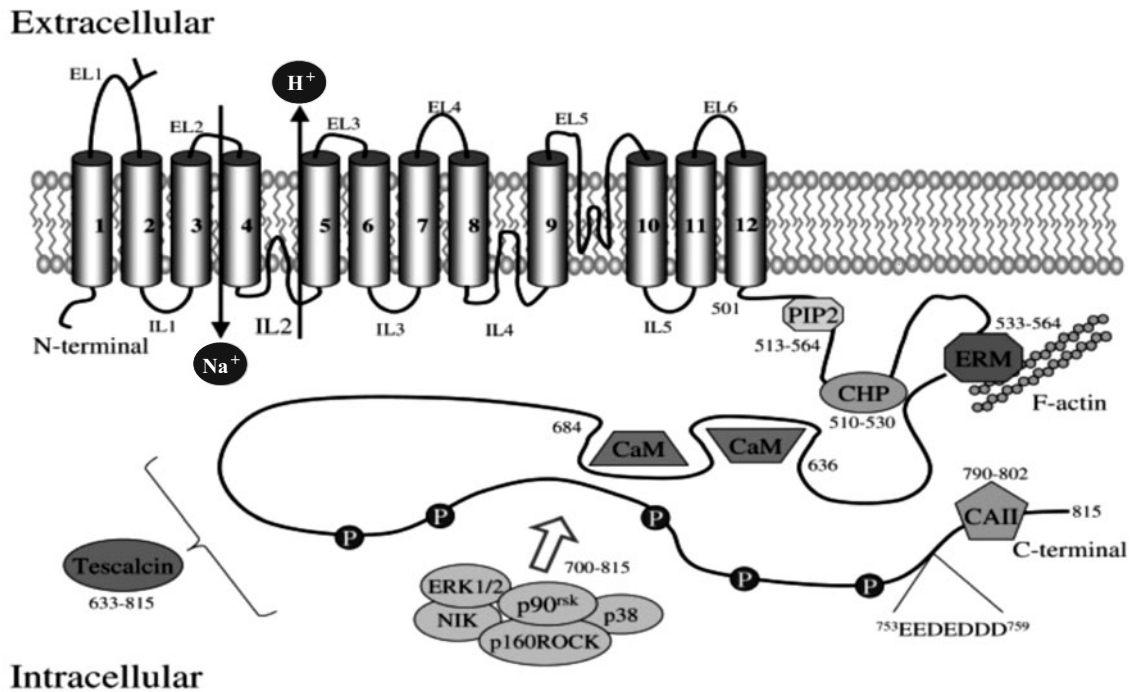


Рис. 2. Топология изоформы NHE1 Na^+/H^+ теплообменник и его регулирующие элементы [31].

EL1 – EL6, внеклеточные петли 1 – 6; IL1 – IL5, внутриклеточные петли 1 – 5; EEDEDDDD (аминокислоты: глутаминовая кислота (E) и аспарагиновая кислота (D)). Обозначены регулирующие элементы и их приблизительное местоположение закрепления: CaM (кальмодулин); CHP (кальциневрин (кальцийзависимая фосфатаза, белковая фосфатаза III)) гомологический белок (протеин); ERM (белки эррин/радиксин/моззин); CAII (карбоангидраза изоформа II); PIP2 (фосфатидилинозитол бисфосфат).

млекопитающих. Эти изоформы обычно обозначают как NHE-1,2,3,4,5,6,7,8,9 соответственно, и различают по тропности к определённым тканям и клеткам, некоторые изоформы преобладают внутри клеток (табл. 1.) [16, 19, 21, 30, 31, 33, 35].

Наиболее широко распространена NHE-1 изоформа, которая была первой клонирована из тканей человека. Она является наиболее изученной и полно охарактеризованной. Данная изоформа найдена в плазматической мембране эритроцитов, тромбоцитов и миокарда.

NHE1 содержит 815 аминокислот. Содержит N-терминальный мембранный домен, состоящий из 500

(1 – 500) аминокислотных остатков, который обеспечивает транспорт ионов. С-терминальный цитоплазматический домен, состоящий из 315 (501 – 815) аминокислотных остатков, является внутриклеточным регулятором активности обменника (рис. 2) [16, 19, 20, 30, 31, 35].

Главная биологическая функция NHE1 состоит в регуляции межклеточного pH. В первую очередь, NHE1 активируется снижением внутриклеточной pH. Активация NHE1 во время ишемии и реперфузии, ведущая к повышению внутриклеточного Na^+ , и, как результат, повышению содержания внутриклеточного Ca^{2+} через NCE и, в конечном счете, повреждению

Таблица 1. Основные изоформы Na^+/H^+ -обменников (NHE) [30, 31]

Изоформы	Вид	Структура		Локализация
		аминокислот	Размер, kDa	
NHE1	Человек	815	91	Кардиомиоциты, тромбоциты, эритроциты. Базолатеральные мембраны различных тканей
NHE2	Крыса	813	91	Клетки желудка, ободочной кишки, тонкого кишечника, надпочечников
	Кролик	809	90	Почки и клетки кишечника
NHE3	Крыса	831	93	Тонкий кишечник, желудок
NHE4	Крыса		81	Желудок, тонкая кишка, толстая кишка, почечные канальца
NHE5	Человек	896	99	Мозг (гиппокамп), селезенка, семенники, скелетные мышцы
NHE6	Человек	669	74	Головной мозг, скелетные мышцы, сердце
NHE7,8,9	Человек	725	80	Мозг (затылочная доля), скелетные мышцы, секреторные ткани (желудка, простаты, поджелудочной железы, щитовидной железы)

клетки и ее гибели [6, 9, 10, 17, 19, 21, 22, 24, 27, 33, 35, 36].

Активация NHE связана и с рядом разнообразных последовательных событий, включая клеточную пролиферацию. Гормоны, к примеру, эпидермальный фактор роста (EGF) и ангиотензин II (АТ II) активируют NHE1, ведут к усилению клеточного роста и дифференциации. В миокарде этот путь ведет к гипертрофии. В некоторых типах клеток NHE1 может играть определенную роль в механизмах апоптоза [6, 17, 19, 21, 22, 24, 27, 31, 35, 36].

NHE1 также важен в организации цитоскелета и миграции. В некоторых типах клеток NHE1 локализуется в ламеллиподиях, где их С-терминальный цитоплазматический хвост (553 – 564 аминокислоты) действует как якорь для актиновых филаментов через связь с белками эзрином, радиксином и мезином (ERM). Нарушение цитоскелетного соединения путем мутации указанных выше аминокислот или путем ингибирования активности NHE1 предотвращает процессы фокальной адгезии и тормозит клеточную миграцию. Кроме того, клетка утрачивает способность контролировать форму [17, 19, 20, 27, 31, 35, 36].

Таким образом, NHE1 может действовать как мембранный структурообразующий каркас, связывающий вместе множество белков, давая им возможность к функциональному взаимодействию. Так, в дополнение к связи с ERM белками и цитоскелетом, NHE1 связан с сигнальными молекулами, такими, как PIP2 (фосфатидилинозитол 4,5-бисфосфат). PIP2 связывается в тех же точках связывания, что и ERM белки, и необходим для связывания F-актина и ERM белков. Гипотетически PIP2, расположенный по-близости от ERM на

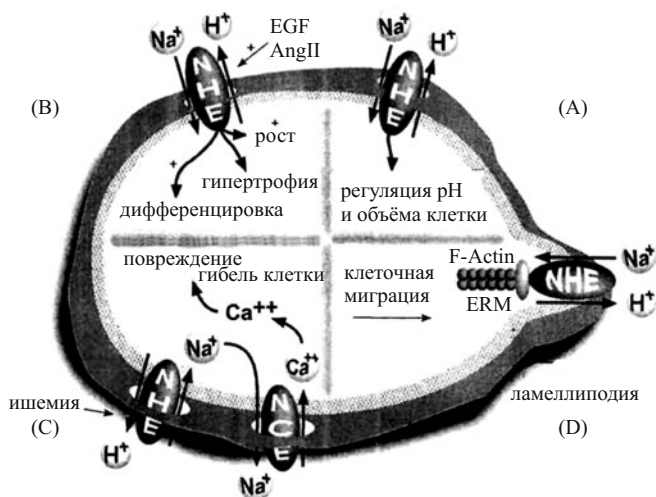


Рис. 3. Биологическая роль NHE-обменника [21].

А) в норме: обмен ионов Na^+ и H^+ ; регуляция pH и объема клетки; В) при развитии сердечной недостаточности: рост, гипертрофия, дифференцировка; С) при ишемии: перегрузка кальцием, повреждение клетки; D) клеточная миграция.

NHE1, необходим для облегчения связывания ERM с F-актином [6, 17, 19, 20, 27, 31, 35].

NHE1 регулируется путем фосфорилирования различных киназ и взаимодействием с другими белками клетки. Дистальная область С-терминального домена NHE содержит множество остатков серина и треонина, которые фосфорилируются протеинкиназами в ответ на продолжительный ацидоз или воздействие EGF и АТ II. Киназы, которые фосфорилируют NHE1 и стимулируют его активность, включают: ERK 1/2 (внеклеточные регулируемые киназы 1 и 2), MAP (митоген

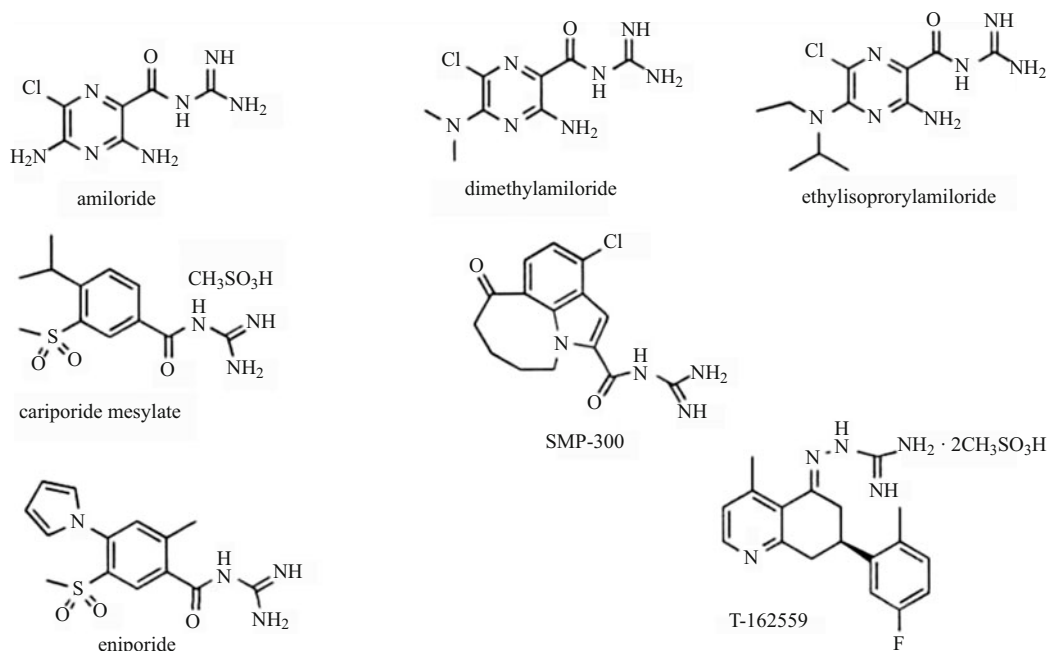


Рис. 4. Химические структуры некоторых ингибиторов NHE [15].

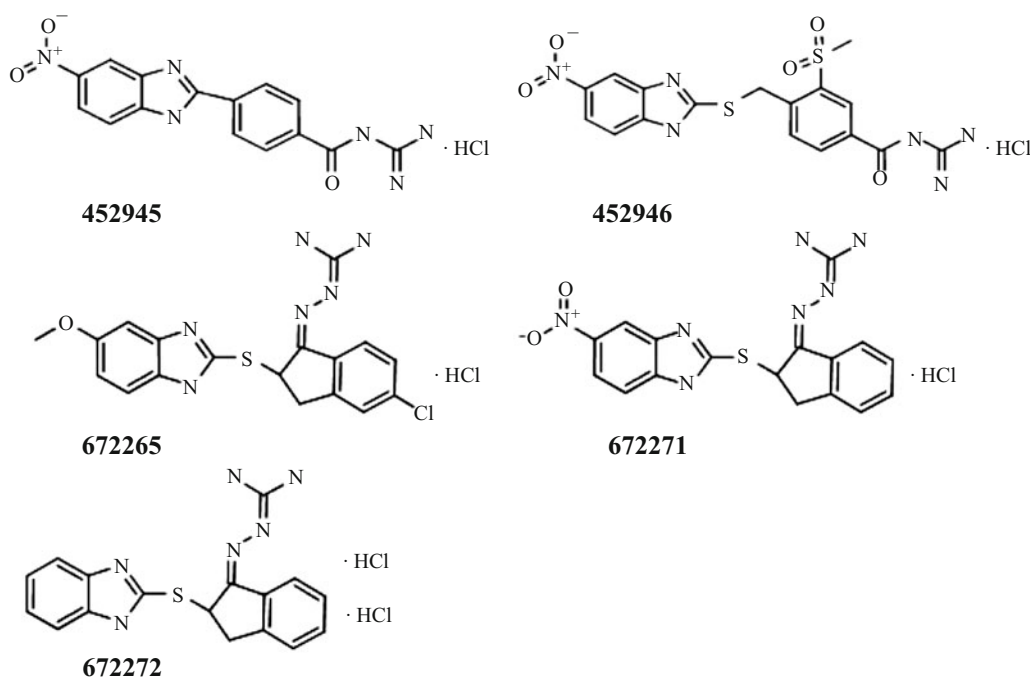


Рис. 5. Химические структуры некоторых производных бензимидазолов ингибиторов NHE [37].

активизируемая протеинкиназа), p90rsk (p90 рибосомальная киназа s6), Rho-связанная киназа (ROCK), p160ROCK, Nck-взаимодействующая киназа (NIK), CaMKII (Ca²⁺/кальмодулин зависимая киназа II) [6, 19, 20, 27, 31, 35].

Таким образом, NHE-обменники вовлечены во множество сложных физиологических и патологических процессов, включающих регуляцию клеточного pH, клеточную миграцию, апоптоз (рис. 3) [17, 19, 22, 24, 27, 35, 36], гипертрофию [6, 18, 22, 24, 31], повреждение, связанные с ишемией и реперфузией [6, 9, 10, 14, 15, 18, 21, 22, 24, 31, 35], эндотелиальную дисфункцию, а также такие заболевания, как сахарный диабет и его осложнения [2, 3, 5], сердечная недостаточность [18, 31], нарушение мозгового кровообращения [26, 30], развитие злокачественных опухолей [31].

Наибольший интерес представляет использование ингибиторов NHE1 в фармакологической защите сердца от ишемических и реперфузионных повреждений [6, 9, 21, 22, 24, 26, 30, 31].

К настоящему времени синтезировано несколько групп ингибиторов, обладающих исключительно высоким сродством к Na⁺/H⁺-транспортеру и низким — к Na⁺/Ca²⁺-обменнику и Na⁺/HCO₃⁻-симпортеру.

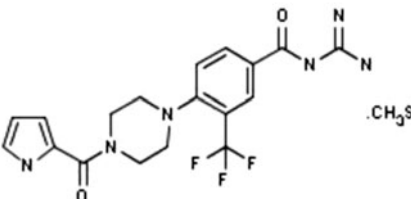
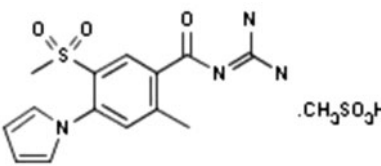
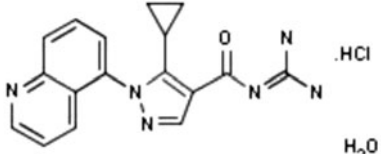
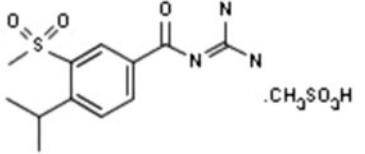
Первоначально это было подтверждено кардиопротекторными эффектами неспецифического ингибитора Na⁺/H⁺ обмена амилорида и его производными (DMA, EIPA, MIBA и HMA), а впоследствии с помощью новых бензоилгуанидиновых производных, таких как НОЕ-642 (карипорид), его производное НОЕ-694, энипорид (EMD-85131), сабипорид (ВПВ-722). Позднее были описаны бициклические производные гуанидина, содержащие хинолин (зони-

порид (CP-597396), MS 31038), индол (SM 20220, SM 20550, SMP-300), бензоксазирон (КБ-R9032), дигидробензофуран (BMS 284640), тетрагидронафтален (Т-162559), циклогептапиридин (ТУ-12533) и другие [6, 13, 25, 28, 29, 32 – 34, 37 – 40]. На рис. 4 представлены химические структуры некоторых ингибиторов [15]. В настоящее время появились данные о наличии способности ингибировать Na⁺/H⁺ обменник у производных бензимидазолов, отличительной особенностью которых является также наличие нециклической гуанидиновой группы (рис. 5) [37, 40].

В соответствии с международной базой данных Thomson Reuters Integrity [37] известно 481 вещество – ингибитор NHE.

В современной литературе имеется достаточно данных о возможности селективных ингибиторов NHE1 уменьшать повреждения миокарда у животных в исследованиях *in vitro* и *in vivo* на экспериментальных моделях ишемии/реперфузии [6, 9, 16, 33]. Так, введение ингибиторов NHE1 перед ишемией приводит к увеличению толерантности к повреждению, значительному снижению размеров зоны инфаркта миокарда к концу реперфузии. Соединения способны улучшать восстановление сократительной функции в условиях кратковременных (до 15 – 20 мин) и длительных (от 45 до 60 мин) периодов ишемии с последующей реперфузией. При этом электронно-микроскопический анализ ультраструктуры кардиомиоцитов, защищенных ингибиторами NHE1 перед ишемией, указывает на практически отсутствие проявлений необратимых повреждений в реперфузированном миокарде. В исследованиях на изолированных органах и целых животных показано, что профилактическое введение ин-

Таблица 2. Ингибиторы NHE1 на стадии клинических исследований [37]

№	Препарат	Химическая структура	Фирма-разработчик	Клинические испытания		Предполагаемая терапевтическая группа
				фаза	нозология	
1.	Sabiporide mesilate (BIB-722)		Boehringer Ingelheim	I	Стенокардия	Средство для лечения стенокардии Антиаритмический препарат Кардиопротектор
2.	EMR-62204	—	Merck KGaA	II	Сердечная недостаточность	Средство для лечения сердечной недостаточности
3.	Eniporide mesilate (EMD-96785, YM-103, EMD-85131)		Merck KGaA Astellas Pharma	II* II*	Инфаркт миокарда Инфаркт миокарда	Средство для лечения острого инфаркта миокарда
4.	Zoniporide hydrochloride (CP-597396, EMD-392426)		Pfizer	III	Ишемия миокарда	Средство для лечения острого инфаркта миокарда, заболеваний коронарных артерий и атеросклероза
5.	Cariporide mesilate (Hoe-642)		Sanofi-Aventis	III III*	Инфаркт миокарда Коронарное шунтирование	Средство для лечения острого инфаркта миокарда Средство, применяемое при проведении коронарного шунтирования

* — исследования приостановлены.

гибиторов NHE1 приводит к уменьшению вероятности возникновения и тяжести развития желудочковых аритмий, в особенности летальных, как при ишемии, так и в период реперфузии. Кардиопротекторное действие подтверждается снижением выхода в миокардиальный отток при реперфузии маркеров тканевого повреждения — МВ-фракции креатинкиназы и лактатдегидрогеназы. Введение этих соединений перед реперфузией или во время ее практически не оказывает кардиозащитного действия.

Многokратно подтвержденные в эксперименте кардиопротекторные свойства ингибиторов NHE1 позволили начать клинические исследования. В соответствии с международной базой данных Thomson Reuters Integrity [37], клинические испытания начаты у 5 соединений. Информация о них представлена в табл. 2.

Предполагаемый спектр возможного клинического применения включает профилактику инфаркта миокарда у больных с нестабильной стенокардией; пациентов с острым инфарктом миокарда, у которых кровотоки в поврежденной зоне восстанавливали с помощью ангиопластики; при проведении операций по замене аортального клапана или аортокоронарного шунтирования; сохранение ультраструктуры и восста-

новление функции донорских сердец при использовании консервирующих растворов.

Анализируя данные доклинических и клинических испытаний, можно отметить, что NHE1 — важная фармакологическая мишень. Данный подход для снижения последствий ишемического и реперфузионного стресса является перспективным, гарантируя более широкое внедрение нового класса кардиопротекторов в клиническую практику.

ЛИТЕРАТУРА

1. Г. Арутюнов, С. Романов, А. Рылова и др., *Врач*, № 12, 7–11 (2002).
2. М. И. Балаболкин, М. Ф. Белоярцева, *Сахарный диабет*, № 2, 29–55 (2001).
3. М. И. Балаболкин, М. Ф. Белоярцева, Л. В. Недосугова и др., *Сахарный диабет*, № 3, 16–19 (2003).
4. Н. А. Гурова, А. А. Спасов, А. С. Питерсен, *Вестн. ВолГМУ*, **38**(2), 70–72 (2011).
5. И. И. Дедов, А. А. Александров, *Consilium medicum*, № 9, 44–53 (2006).
6. Я. Ф. Зверев, В. М. Брюханов, *Обзоры по клинич. фармакол. и лек. терапии*, № 3, 16–29 (2003).
7. В. П. Михин, В. В. Савельева, *РКЖ*, **75**(1), 49–56 (2009).
8. В. Н. Перфилова, И. Н. Тюренков, *Вестник ВолГМУ*, **13**(1), 30–33 (2005).

9. О. И. Писаренко, *Рос. физиол. журн. им. И. М. Сеченова*, **90**(9), 1103 – 1110 (2004).
10. О. И. Писаренко, *Кардиология*, № 9, 62 – 72 (2005).
11. А. А. Спасов, И. Н. Иежица, И. Н. Тюренков и др., *Вестник РАМН*, № 7, 20 – 27 (2006).
12. А. А. Спасов, И. Н. Иежица, М. В. Харитоновна, Н. А. Гурова, *Бюл. экпер. биол.*, **146**(7), 69 – 71 (2008).
13. S. Ahmad, K. Ngu, D. W. Combs, et al., *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **14**(1), 177 – 180 (2004).
14. D. G. Allen, X. H. Xiao, *Cardiovasc. Res.*, **57**(4), 934 – 941 (2003).
15. I. Andreadou, E. K. Iliodromitis, M. Koufaki, et al., *Curr. Med. Chem.*, № 15, 3204 – 3213 (2008).
16. M. Avkiran, *J. Card. Surg.*, **18**(Suppl 1), 3 – 12, (2003).
17. M. Baumgartner, H. Patel, D. L. Barber, *Am. J. Physiol. Cell. Physiol.*, **287**(4), 844 – 850 (2004).
18. H. E. Cingolani, I. L. Ennis, E. A. Aiello, N. G. Pérez, *Pflugers Arch.*, **462**(1), 29 – 38 (2011).
19. L. Fliegel, *Int. J. Biochem. Cell. Biol.*, **37**(1), 33 – 37 (2009).
20. L. Fliegel, *J. Mol. Cell. Cardiol.*, **44**(2), 228 – 237 (2008).
21. L. Fliegel, *Expert. Opin. Ther. Targets.*, **13**(1), 55 – 68 (2009).
22. C. D. Garciarena, C. I. Caldiz, E. L. Portiansky, et al., *J. Appl. Physiol.*, **106**(4), 1325 – 1331 (2009).
23. A. Jahangir, S. Sagar, A. Terzic, *J. Appl. Physiol.*, № 103, 2120 – 2128 (2007).
24. M. Karmazyn, A. Kilić, S. Javadov, *J. Mol. Cell. Cardiol.*, № 44, 647 – 653 (2008).
25. J. Kim, Y. S. Jung, W. Han, et al., *Eur. J. Pharmacol.*, **567**(1 – 2), 131 – 138 (2007).
26. D. B. Kintner, Y. Wang, D. Sun, *Front Biosci.*, № 12, 762 – 770 (2007).
27. G. Koliakos, K. Paletas, M. Kaloyianni, *Connect. Tissue Res.*, **49**(3), 157 – 161 (2008).
28. S. Lee, K. Y. Yi, S. J. Youn, et al., *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **19**(5), 1329 – 1331 (2009).
29. J. M. Li, Y. He, P. Zhou, et al., *Yao Xue Xue Bao*, **46**(8), 936 – 941 (2011).
30. J. Luo, D. Sun, *Curr. Neurovasc. Res.*, **4**(3), 205 – 215 (2007).
31. M. E. Malo, L. Fliegel, *Can. J. Physiol. Pharmacol.*, **84**(11), 1081 – 1095 (2006).
32. D. Mao, Y. Xu, X. Hu, et al., *Chem. Biodivers.*, **6**(10), 1727 – 1736 (2009).
33. B. Masereel, L. Pochet, D. Laeckmann, *Eur. J. Med. Chem.*, **38**(6), 547 – 554 (2003).
34. M. Ren, J. Dong, Y. Xu, et al., *Chem. Biodivers.*, **7**(11), 2727 – 2736 (2010).
35. E. R. Slepikov, J. K. Rainey, B. D. Sykes, L. Fliegel, *Biochem. J.*, **401**(3), 623 – 633 (2007).
36. C. Stock, A. Schwab, *Acta. Physiol. (Oxf.)*, **187**(1 – 2), 149 – 157 (2006).
37. Thomson Reuters Integrity: Официальный сайт [Электронный ресурс]. URL: <http://integrity.thomson-pharma.com> (дата обращения 01.05.2011).
38. W.-T. Xu, N. Jin, J. Xu, et al., *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, № 19, 3283 – 3287 (2009).
39. R. Zhang, J. Dong, Y.-G. Xu, et al., *Eur. J. Med. Chem.*, № 44, 3771 – 3776 (2009).
40. R. Zhang, L. Lei, Y.-G. Xu, et al., *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, № 17, 2430 – 2433 (2007).

Поступила 01.06.12

STRUCTURE AND PHYSIOLOGICAL ROLE OF NHE1 AND PHARMACOLOGICAL REGULATION OF ITS ACTIVITY

A. A. Spasov, N. A. Gurova, and M. V. Kharitonova

Research Institute of Pharmacology, Volgograd State Medical University, pl. Pavshikh Bortsov 1, Volgograd, 400131, Russia

This article summarizes results of preclinical and clinical trials concerning the effects of NHE1 inhibitors and prospects for their clinical application. NHE1 has been identified as the most abundant isoform of Na⁺/H⁺ exchanger in the heart of mammals. NHE1 regulates pH homeostasis, cell proliferation, migration, adhesion, and apoptosis. Ischemic activation of the NHE1 in myocardium results in intracellular calcium overload, which aggravates ischemic/reperfusion injury. In accordance with results of preclinical experimental studies, selective inhibition of the sarcolemmal NHE1 can delay progression of injury during ischemia, thereby reducing myocardial necrosis and improving recovery of ventricular function upon reperfusion. Inhibitors of NHE1, which can provide beneficial effect in the clinical treatment of these conditions, are currently under preclinical and clinical tests. At present, there are 481 NHE inhibitors known according to the Thomson Reuters Integrity database.

Keywords: Na⁺/H⁺ exchanger (NHE); NHE inhibitor; cardioprotection; ischemia; cardiac hypertrophy