

Czy powstaną nowe leki hipotensyjne? Część I

Will new antihypertensive drugs emerge? Part 1

Summary

Even though there are numerous hypotensive preparations available on the market, the effectiveness of the therapy of arterial hypertension is still highly unsatisfactory. The effectiveness of the therapy would certainly be enhanced by the introduction of new antihypertensive drugs. Our work outlines currently-studied pathophysiological mechanisms, knowledge of which may improve synthesis and introduce new hypotensive drugs into the pharmaceutical market. We further describe innovative chemical compounds that have a chance to expand the pharmacological potential of the arterial hypertension therapy in the near future. In particular, the research briefly presents compounds that demonstrate the agonist-like activity to angiotensin 1–7, inhibiting biosynthesis or blocking endothelin receptors and inhibitors of the cerebral aminopeptidase and vascular oxidase. Finally the research introduces new preparations that open the potassium channel and release nitric oxide. The second part of the work briefly outlines the study of the compounds demonstrating a simultaneous effect on two metabolic pathways leading to the reduction of blood pressure. For example, preparations that have a simultaneous effect on both, the angiotensin converting enzyme and the natriuretic peptide synthesis, or drugs from the calcium antagonists group, which inhibit both the L-type and T-type calcium channels. The described preparations are at different stages of the pharmacological and clinical studies; however, it may be expected that at least some of them will be applied in the therapy of arterial hypertension in the relatively near future.

key words: hypertension, MAS receptor, ETA receptor, AT1 receptor, angiotensin 1–7, multi-target drugs, ACE, ECE, NEP, nitric oxide releasing drug

Arterial Hypertension 2010, vol. 14, no 4, pages 235–252.

Wstęp

Nadciśnienie tętnicze jest głównym czynnikiem ryzyka chorób sercowo-naczyniowych, takich jak: udar mózgu, zawał serca, niewydolność serca i schyłkowa choroba nerek [1]. Współczesne wytyczne leczenia hipotensyjnego zalecają wartości ciśnienia tętniczego poniżej 140/90 mm Hg, a także ochronę przed powikłaniami ze strony układu sercowo-naczyniowego i nerek [2, 3]. Większość pacjentów z nadciśnieniem tętniczym może osiągnąć te cele za pomocą jednego czy dwóch leków hipotensyjnych w połączeniu z odpowiednią zmianą stylu życia, ale w innych przypadkach nie spełniają ich nawet leki z trzech lub czterech grup farmakologicznych. Czasami niepowodzenie leczenia może być spowodowane nieprawidłowym stosowaniem leków przez pacjenta lub brakiem współpracy z jego strony; często jednak wina leży po stronie lekarza: niezręcznie wybrane schematy terapeutyczne lub występowanie interakcji przy równoczesnym stosowaniu leków z innych powodów niż nadciśnienie. U niektórych pacjentów jednak nigdy nie osiąga się zadowalających efektów leczenia hipotensyjnego. Oporne na leczenie nadciśnienie tętnicze jest zdefiniowane jako brak możliwości osiągnięcia docelowego ciśnienia krwi mimo stosowania co najmniej trzech leków w pełnych dawkach, z których jeden powinien być preparatem moczopędnym [2]. Pacjenci z tym schorzeniem są narażeni na zwiększone ryzyko sercowo-naczyniowe wynikające z historii długotrwałego, ciężkiego nadciśnienia tętniczego, zwykle w połączeniu z innymi czynnikami ryzyka, takimi jak: otyłość, cukrzyca i przewlekła choroba nerek [4]. Zatem u pacjentów, u których ciśnienie krwi nie może być kontrolowane przez co najmniej trzy leki, należy znaleźć nowe, innowacyjne środki, które mogą spowodować dodatkowy efekt hipotensyjny. Pomimo istnienia ponad 200 leków, które w różnym stopniu obniżają ciśnienie krwi, niemal 50% pacjentów zaprzestaje ich przyjmowania w ciągu 6 miesięcy od początku terapii z powodu ich słabej skuteczności lub pojawienia

Adres do korespondencji: lek. Anna Wolska-Bułach
Katedra i Klinika Hipertensjologii, Angiologii i Chorób Wewnętrznych
UM im. Karola Marcinkowskiego
ul. Długa 1/2, 61–848 Poznań
e-mail: gremian@interia.pl



Copyright © 2010 Via Medica, ISSN 1428–5851

Tabela I. Nowe preparaty o działaniu hipotensyjnym
Table I. New preparations of the hypotensive action

1. Leki wpływające na układ RAA
A. Doustne inhibitory reniny: pepstatin, CGP29287, enalkiren, CGP38560A, remikiren, zankiren, aliskiren
B. Modulatory konwertazy angiotensyny typu 2 (ACE2)
C. Agoniści Ang 1–7/receptora MAS: AVE-0991
D. Inhibitory mózgowej aminopeptydazy A: EC33 i jego prolek RB150, PC18
E. Transdermalne preparaty kaptoprilu
2. Inhibitory enzymu rozkładającego czynniki natriuretyczne (NEP): kandoksantril
3. Antagoniści receptora endoteliny: bosentan, atrasentan, darusentan, BQ-123 i 788
4. Inhibitory enzymu konwertującego endotelinę: PD 69185, PD 159790, CGS 35066, RO 67-7447, SM-19712
5. Inhibitory naczyniowej oksydazy NAD(P)H: PR-39, p91ds-tat
6. Leki redukujące połączenia krzyżowe kolagenu: alagebrium
7. Inhibitory kinazy Rho: Y-27632, fasudil, hydroxyfasudil, KI-2309
8. Modulatory nerkowej Na ⁺ /K ⁺ -ATPazy: rostafuroksyna, przeciwciała przeciw ouabainie, resibufogenina, PST 2238
9. Leki otwierające kanał potasowy: iptakalim
10. Antagoniści urotensyny II: S6716, ACT-058362 (palurosán)
11. Szczepionka hipotensyjna
12. Leki o mnogich mechanizmach działania:
A. ACE/NEP inhibitory: fasidotril, omapatrilat, GW796406, GW660511X
B. ECE/NEP inhibitory: CGS26303, CGS34226, SLV-306
C. ACE/ECE/NEP inhibitory: CGS 35601, CGS 37808
D. Antagoniści receptora AT1/ETA
E. Związki będące antagonistą receptora AT1 i ACEI: olmesartan
F. Leki uwalniające NO: NO-adrenergiki (PF9404C); NO-CBBs; NO-ACEI (S-nitrosokaptopril, NCX 899); NO-sartany (NO-losartan, WB1106 (NO-telmisartan))
G. Aktywatory cykazy guanylowej bez udziału NO: BAY412272
13. Antagoniści wapnia: efonidypina, klewidypina, azelnidypina, S-amlodypina, KYS05001, mibefradil
14. Strategia <i>polypill</i>

RAA — układ renina–angiotensyna–aldosteron; Ang 1–7 — angiotensyna 1–7; NEP (*neutral endopeptidase*) — neutralna endopeptydaza; ACE (*angiotensin converting enzyme*) — enzym konwertujący angiotensynę; ECE (*endothelin converting enzyme*) — enzym konwertujący endotelinę; AT1 (*angiotensin subtype 1 receptor*) — receptor angiotensynowy typu 1; ETA (*endothelin type A receptor*) — receptor endoteliny typu A; NO (*nitric oxide*) — tlenek azotu; ACEI (*ACE inhibitors*) — inhibitory ACE; NO-CBBs (*calcium channel blockers*) — antagoniści wapnia

się działań niepożądanych [5]. Ograniczenia te stymulują intensywne badania nad rozwojem nowych leków hipotensyjnych, które mogą być potencjalnie przydatne w leczeniu nadciśnienia tętniczego. Zagadnienie to obejmuje obecnie dwa główne podejścia:

- odkrycie i rozwój oryginalnych molekuł z nowymi mechanizmami działania;
- syntezę związków chemicznych wyposażonych w podwójny profil farmakologiczny, o lepszych właściwościach i mniejszej liczbie działań niepożądanych.

Artykuł jest przeglądem zarówno znanych, jak i niedawno odkrytych patofizjologicznych mechanizmów prowadzących do nadciśnienia tętniczego oraz hipotensyjnych związków chemicznych in-

rujących w te mechanizmy. Związki te są obecnie na różnych etapach badań farmakologicznych, a wiele z nich może stać się w przyszłości lekami hipotensyjnymi (tab. I).

Leki wpływające na układ renina–angiotensyna–aldosteron

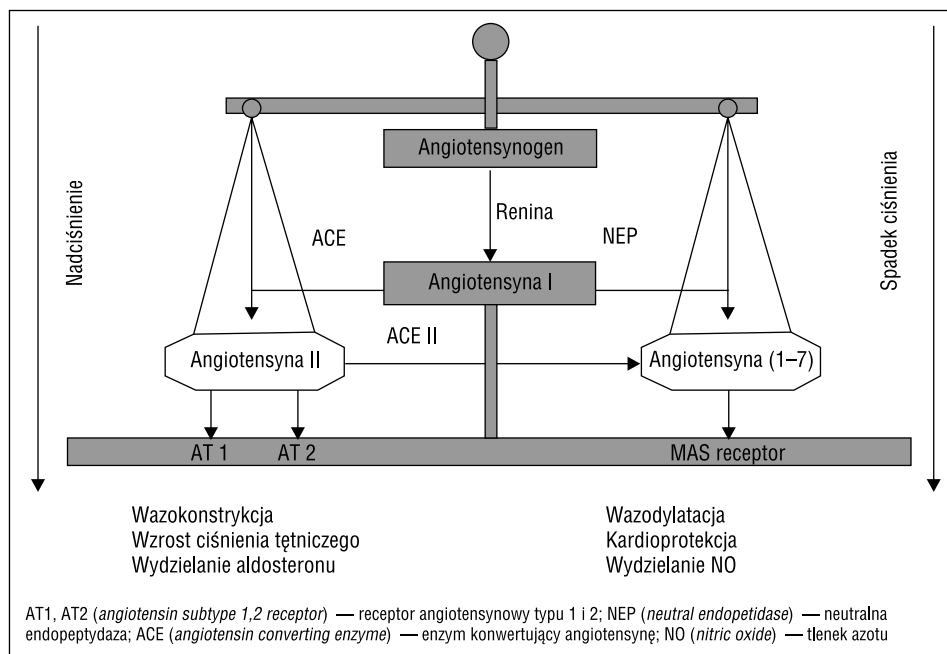
Inhibitory reniny

Układ renina–angiotensyna–aldosteron (RAA) odgrywa kluczową rolę w kontroli ciśnienia tętniczego. Powodujący wzrost ciśnienia tętniczego oktaptyd angiotensyny II (AngII) powstaje w wyniku

rozszczenia decapeptydu angiotensyny I (AngI) przez enzym konwertujący angiotensynę (ACE, *angiotensin converting enzyme*). Z kolei AngI jest produkowana z angiotensynogenu w wyniku proteolitycznej aktywności reniny (ryc. 1).

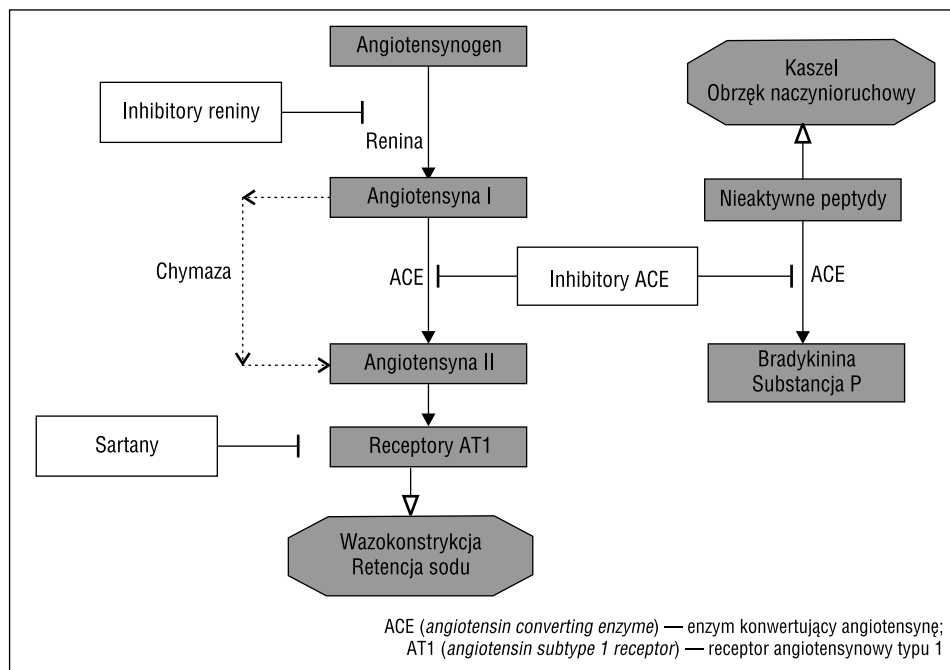
Inhibitory konwertazy AngI (ACEI, *angiotensin converting enzyme inhibitors*) i leki blokujące receptor angiotensynowy typu 1 AngII (AT1, *angiotensin subtype 1 receptor*) = (ARB [*angiotensin receptor blockers*]) = sartany są szeroko stosowane w leczeniu nadciśnienia tętniczego i związanych z nim zaburzeniach sercowo-naczyniowych. Ponadto wyniki obecnych badań wykazały, że poprzez blokadę układu RAA hamują progresję nefropatii cukrzycowej w schyłkowej niewydolności nerek [6–8]. Wiele danych doświadczalnych wskazuje, że oprócz aktywności proteolitycznej ACE istnieją również inne, dodatkowe ścieżki zaangażowane w przekształcanie AngI w AngII, takie jak na przykład chymaza, choć rzeczywista rola tych ACE-zależnych mechanizmów proteolitycznych nie została dobrze określona *in vivo* [9, 10]. Rozsądne wydają się hipotezy, że inhibicja ACE nie jest w stanie samodzielnie zapewnić całkowitego stłumienia AngII. Mimo że zahamowanie ACE jest nadal skuteczną strategią przeciwnadciśnieniową, powoduje również nagromadzenie biologicznie aktywnych peptydów, które wraz z AngI stanowią substraty dla proteolitycznej aktywności tego enzymu. Wśród nich bradykininy wydają się odpowiadać za częste działania niepożądane inhibitorów ACE, takie jak kaszel czy obrzęk naczynioruchowy (ryc. 2).

Ponieważ nefro-, angio-, kardio- i neurotoksyczne działanie angiotensyny II było znane od wielu lat, blokowanie receptora AT1 wydawało się zasadne. Receptor proreninowo/reninowy (Pr/R-R) pierwotnie wiązano tylko z regulacją gospodarki wodno-elektrolitowej i kwasowo-zasadowej. Okazało się jednak, że odgrywa on także rolę w patogenezie chorób wielu narządów, w szczególności serca, naczyń krwionośnych, nerek i ośrodkowego układu nerwowego (OUN) [11–14]. Fakt ten stał się przyczyną poszukiwania związków hamujących syntezę poszczególnych ogniw układu RAA lub blokujących ich receptory. Nie przypuszczano, że renina, której przez długi czas nie przypisywano innego działania niż katalizowanie powstawania angiotensyny 1–10 z angiotensynogenu, posiada własne receptory, których pobudzenie rozpoczyna szlaki sygnalizacyjne angiotensyno-II-zależne i niezależne [15–17]. Prekursorem reniny jest prorenina, która stanowi 90% całkowitej reniny krążącej we krwi u człowieka [18]. Aktywacja proreniny do reniny może zachodzić drogą **proteolityczną** (przy użyciu konwertazy aparatu przykłębuszkowego nerek, poprzez enzymatyczne odcięcie propeptydu) [19, 20] oraz **nieproteolityczną** (drogą konformacji cząsteczki proreniny, w wyniku której dochodzi do odsłonięcia centrum katalitycznego reniny). Udowodniono, że renina i prorenina wykazują pobudzający wpływ na syntezę TGF- β 1 (*transforming growth factor beta 1*) i syntezę białek macierzy mechanizmem angiotensynoniezależnym



Rycina 1. Dwa systemy o przeciwważnym udziale w regulacji ciśnienia tętniczego

Figure 1. Two counterbalanced systems involved in the regulation of blood pressure



Rycina 2. Zależności w zakresie układu renina–angiotensyna–aldosteron oraz wynikające z nich skutki

Figure 2. Depending on the renin–angiotensin–aldosteron system and the consequences resulting therefrom

[21] oraz że aktywacja szlaku sygnalizacyjnego ERK 1/2 (*extracellular signal regulated kinases*) przez proreninę może być przyczyną cukrzycowego stwardnienia kłębuszków nerkowych u myszy [22]. Ponadto blokada tego szlaku przy użyciu pentapeptydu, re produktu fragmentu chwytanego proreniny, może zapobiec fibrotyzacji nerek [21, 23] i mięśnia sercowego [24, 25]. W końcu udowodniono, że wzmożona ekspresja receptora proreninowego jest przyczyną nadciśnienia tętniczego [26], zwiększonej ekspresji cyklooksygenazy 2 w korze nerek [27] oraz może uczestniczyć w patogenezie powikłań cukrzycowych [28]. W świetle powyższych rozważań skierowano uwagę na hamowanie reniny, która stanowi pierwsze ogniwo mogące ograniczyć aktywność układu RAA. Inhibitory reniny zapobiegają powstawaniu Ang I i Ang II bez wpływu na metabolizm kinin, więc oferują profil leczniczy różniący się od inhibitorów ACE i ARB. Ze względu na wysoką swoistość reniny tylko dla jednego substratu, angiotensynogenu, należy się spodziewać mniej częstych działań niepożądanych. Obserwacje te posiadają istotne znaczenie dla opracowania nowych strategii leczniczych. Podjęto wiele prób syntezy inhibitorów reniny — pierwszymi z nich były dipeptydowe, analogowe inhibitory, czego przykładem jest **pepstatin** [29] i analogi aminokwasów N-końcowej sekwencji angiotensynogenu zawierające cząstkę rozszczepiającą reninę [30, 31]. Ze względu na ich peptydowy charakter związki te posiadają ograniczoną stabilność i niską biodo-

stępność oraz krótki czas działania po podaniu doustnym [32]. Dalsze chemiczne modyfikacje doprowadziły do powstania związków, takich jak **CGP29287**, posiadających dużą stabilność i długi okres półtrwania. Później odkryto wiele innych cząsteczek, takich jak: **enalkiren**, **CGP38560A**, **remikiren** i **zankiren**. Wszystkie one wykazały jednak małą aktywność przy podawaniu doustnym oraz dostępność biologiczną mniejszą niż 2%, przy czym ich wpływ na ciśnienie był niewielki [33]. Poprawę profilu farmakokinetycznego osiągnięto dopiero poprzez syntezę niepeptydowego inhibitora reniny — **aliskirenu** — który posiada dość akceptowalną biodostępność przy przyjęciu doustnym. Aliskiren, pomimo hamowania aktywności enzymatycznej układu reniny, zwiększa jednak biosyntezę oraz wydzielanie reniny i proreniny, które mogą aktywować receptor (pro)reniny [34]. Ponieważ aktywacja receptorów proreniny pobudza ścieżkę kinazy białkowej, szczególnie zewnątrzkomórkowych sygnałów związanych z kinazami, i zwiększa przekształcenie czynnika wzrostu beta, inhibitora-1 aktywatora plazminogenu, fibronektyny i kolagenu typu 1 w komórkach mezangialnych nerek [35, 36], wysunięto podejrzenia, że leczenie aliskirenem może wywołać uszkodzenia tkanki nerkowej. Wyniki dalszych badań wykazały jednak, że aliskiren zapobiega progresji mikroalbuminurii u szczurów z cukrzycą [37]. Zmniejsza również ekspresję genową TGF- β 1 i kolagenu 1 w rdzeniu nerek [37], która może być sty-

mulowana poprzez aktywację receptorów proreniny w komórkach mezangialnych [35, 36]. Aliskiren znacznie obniża ekspresję genu receptora proreniny w kłębuszkach i kanalikach nerek u zwierząt z nadciśnieniem tętniczym i cukrzycą *in vivo*. Ponieważ nie zmienia on ekspresji genu receptora proreniny w hodowlanych komórkach mezangialnych, wyniki badań *in vivo* sugerują, że może hamować ekspresję genu receptora proreniny poprzez mechanizmy pośrednie. Dlatego aliskiren prawdopodobnie hamuje aktywność RAA przez co najmniej 2 mechanizmy: 1) wiąże się z aktywnym miejscem proreniny i reniny oraz 2) zmniejsza ekspresję receptora proreniny, którego aktywacja normalnie powoduje około 5-krotny wzrost katalitycznej konwersji angiotensynogenu [38]. Wiadomo, że aliskiren zatwierdzony do leczenia nadciśnienia tętniczego w 2007 roku powoduje spadek aktywności reniny w osoczu, siężenia angiotensyny I i II oraz ciśnienia krwi u pacjentów z nadciśnieniem tętniczym [39]. Redukcja ciśnienia tętniczego krwi przy stosowaniu aliskirenu jest podobna jak przy stosowaniu inhibitorów ACE, ARB i leków moczopędnych, uniemożliwiając wzrost aktywności reniny w osoczu tak, jak przy wykorzystaniu tych leków [39]. U pacjentów z nadciśnieniem doustna dawka aliskirenu (150–640 mg) raz na dobę powoduje spadek w osoczu AngI i II przez 48 godz., a jego skuteczność i tolerancja są podobne do enalaprilu [40], losartanu [41] i irbesartanu [42]. Zatem aliskiren jest pierwszym doustnym, długotrwałym, skutecznym, niepeptydowym inhibitorem reniny i stanowi alternatywę dla inhibitorów ACE i ARB w nadciśnieniu tętniczym i innych chorobach układu sercowo-naczyniowego, a także nerek, o czym świadczą wyniki badań w nefropatii cukrzycowej [43].

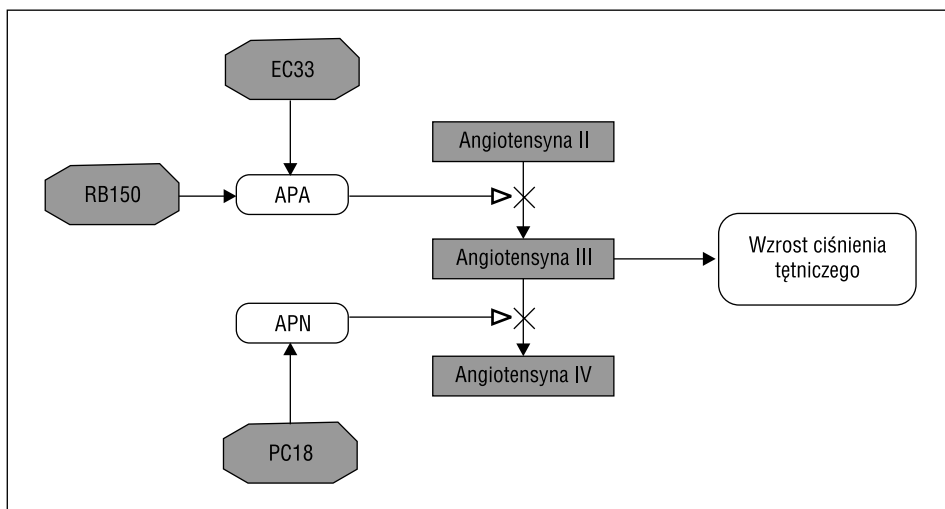
Modulatory konwertazy angiotensyny typu 2

Konwertaza angiotensyny typu 2 (ACE2) jest karboksypeptydazą o funkcji różniącej się od ACE [44, 45]. Hydrolizuje AngI w Ang 1–9, AngII w Ang 1–7 i bradykininy w [des-Arg9]-bradykininy, ale nie powoduje konwersji AngI w AngII, a także jest niewrażliwa na inhibitory ACE [44, 45]. Ponadto ACE2 jest prawdopodobnie negatywnym regulatorem ACE w sercu i nerkach. Istnieje wiele przesłanek, że niedobór ACE2 jest ważnym czynnikiem w patogenezie nadciśnienia tętniczego, przewlekłych chorób nerek, a szczególnie nefropatii cukrzycowej [46]. Konwertaza angiotensyny typu 2 odgrywa rolę w regulacji ciśnienia krwi przez przeciwstawianie się silnemu zwężeniu naczyń wywołanemu przez AngII [44]. Zatem stymulacja ACE2 byłaby synergiczna lub addytywna w stosunku do inhibitorów ACE i ARB w wywoływaniu rozszerzenia naczyń krwiono-

śnych i obniżaniu ciśnienia krwi [47]. Natomiast inhibicja mogłaby stać się przydatna w leczeniu objawowej hipotonii. Badania nad agonistami ACE2 pozwolą lepiej zrozumieć patofizjologiczną rolę ACE2 i wspomogą rozwój nowych leków hipotensyjnych.

Agoniści receptora angiotensyny 1–7 (receptor MAS)

Wiedza o układzie RAA uległa istotnemu wzbogaceniu dzięki odkryciu szlaku sygnalizacyjnego prowadzącego do powstawania angiotensyny 1–7, która wykazuje działania przeciwne do AngII (ryc. 1). Za jej powstanie odpowiada ACE2, poprzez wpływ na angiotensynę 1–10 (w wyniku tej reakcji powstaje angiotensyna 1–9) i ACE1 (ACE1 katalizuje odszczepienie dipeptydu od angiotensyny 1–9, w wyniku tej reakcji powstaje angiotensyna 1–7). Angiotensyna 1–7 może również powstać w wyniku oddziaływania konwertazy 2 na angiotensynę 1–8 [46, 48]. Wykazuje ona aktywność podobną do bradykininy w poszczególnych rodzajach naczyń [49–51], a jej wpływ ujawnia się poprzez interakcję z białkiem G należącym do receptora MAS [52]. Swoisty receptor angiotensyny 1–7 (określany jako receptor MAS) różni się zarówno od receptora AT1, jak i AT2 [53, 54]. Interakcje agonisty Ang1–7 z receptorem MAS wyrażone na poziomie układu krążenia wywołują wiele istotnych skutków biologicznych, takich jak rozszerzenie naczyń krwionośnych (stymulując aktywację eNOS [*endothelial nitric oxide synthase*] i wydzielanie NO [*nitric oxide*]) [55], działanie natriuretyczne i diuretyczne [46, 48] oraz kardioprotekcja i poprawa funkcji śródbłonna, przeciwstawiając to pewnym negatywnym zjawiskom, takim jak proliferacja komórek i ich przerost, zwłóknienie śródbłonna i zwiększona krzepliwość krwi [56]. Główny wpływ na układ krążenia związany z aktywacją receptora Mas można przypisać indukcji śródbłonkowej syntazy tlenu azotu, a w konsekwencji uwolnieniu NO. Choć Ang 1–7 może być postrzegana jako ważny składnik układu RAA, posiadająca pozytywny wpływ na układ krążenia, jej peptydowy charakter jest przeszkodą dla wykorzystania jej cząsteczek lub innych podobnych peptydów w chorobach wymagających przewlekłej farmakoterapii, takich jak nadciśnienie tętnicze. Ostatnio powstały związki o charakterze niepeptydowych agonistów receptora MAS [57, 58]. Wśród tych obiecujących związków najdokładniej zbadano preparat o nazwie AVE-0991. Wyniki aktualnych badań wskazują na powinowactwo AVE-0991 do tego samego miejsca wiązania co Ang 1–7 w komórkach śródbłonna, AVE-0991 ma także wpływ na uwalnianie śródbłonkowego NO [57]. Ponadto zmniejsza, wywołaną przez zawał serca, nie-



Rycina 3. Szlaki metaboliczne AngII i AngIII w mózgu związane z aminopeptydazą A (APA) i N (APN)
Figure 3. Metabolic pathways of AngII and AngIII in the brain involving aminopeptidases A and N

wydolność serca u szczurów *in vivo*, a także rozwija znaczne właściwości kardioprotekcyjne i antyniedokrwienne [59]. Z powyższych rozważań wynika, że aktywacja receptorów poszczególnych ogniw układu RAA ma przeciwne skutki. I tak aktywacja szlaku receptora PrR i AT1 wykazuje działanie wazokonstrykcyjne, wywołuje dysfunkcję endokrynną śródbłonna naczyniowego, zwiększa krzepliwość krwi, wywołuje kardiomiopatię oraz nasila proliferację i przerost komórek, podczas gdy stymulacja szlaku sygnalizacyjnego zapoczątkowanego angiotensyną 1–7 wykazuje efekty przeciwstawne [48]. Tak więc aktywacja receptora MAS dla angiotensyny 1–7 wydaje się posiadać działanie kardio- [54], naczynio- [48] i nefroprotekcyjne [14]. Powyższe fakty sugerują, że leki aktywujące generację angiotensyny 1–7 mogą istotnie wzbogacić terapię chorób sercowo-naczyniowych.

Inhibitory mózgowej aminopeptydazy A

Wiele wyników badań naukowych sygnalizuje, że nadreaktywność mózgowego układu RAA ma istotny wpływ na rozwój i utrzymanie nadciśnienia tętniczego [60–63]. Wśród bioaktywnych peptydów mózgowych AngII i III wykazują powinowactwo do receptorów AT1 [64, 65]. Dzięki badaniom na mysich mózgu dowiedziono, że enzymy: aminopeptydaza A (APA, *aminopeptidase A*) hydrolizuje angiotensynę II do angiotensyny III (Ang 2–8), zaś aminopeptydaza N (APN, *aminopeptidase N*) angiotensynę III do angiotensyny IV (ryc. 3). Po wstrzyknięciu AngII i III do mózgu obserwuje się wzrost ciśnienia krwi [66, 67]. Pierwotnie opracowano specyficzne i selektywne inhibitory APA — EC33 i APN — PC18

[68, 69]. Podanie do komórek mózgowych szczurów z nadciśnieniem specyficznego inhibitora aminopeptydazy A — EC33 — zablokowało powstawanie mózgowej formacji AngIII i odpowiedź presyjną egzogennej AngII, sugerując, że przekształcenie AngII do AngIII jest warunkiem koniecznym do zwiększenia ciśnienia krwi [70, 71]. Zaś selektywny inhibitor APN — PC18, podany samodzielnie do komórek mózgowych, spowodował wzrost ciśnienia tętniczego [70], ponieważ zahamował przekształcanie mózgowej AngIII w mniej aktywną AngIV. W przeprowadzonym badaniu ta presyjna odpowiedź została zablokowana przez uprzednie leczenie antagonistą receptora AT1 — losartanem [70], pokazując, że zablokowanie działania APN na metabolizm AngIII prowadzi do wzrostu stężenia endogennych AngIII, co spowodowało wzrost ciśnienia tętniczego przez interakcję z receptorami AT1. Odkrycie, że EC33 całkowicie blokuje powodowany przez PC18 wzrost ciśnienia, potwierdziło, że endogenna mózgową AngIII jest produkowana z endogennej mózgowej AngII w wyniku działania APA. Wszystkie te dane pokazały, że AngIII, generowana przez APA, jest jednym z głównych peptydów efektorowych mózgowego RAA, wywierając toniczną kontrolę nad ciśnieniem tętniczym w nadciśnieniu u szczurów. Jednak EC33 nie przekracza bariery krew–mózg [70]. Zsyntetyzowano zatem RB150 — 4,4'-dwusiarkowy (kwas 4,4-bis [(3S)-3-sulfonowy aminobutyli]) [71], aktywny systemowo prolek EC33 uzyskany przez dimeryzację mostków dwusiarczkowych; RB150 podany doustnie przekracza barierę mózgową, hamuje mózgową aminopeptydazę A i powstawanie AngIII oraz znacząco zmniejsza ciśnienie tętnicze u szczu-

rów z nadciśnieniem [71, 72]. RB150 powoduje także osoczowy spadek stężenia wazopresyny (AVP), zwiększając diurezę i wywołując łagodną natriurezę bez wpływu kaliuretycznego oraz zmniejszając objętość krwi [73].

Mózgowa APA, generując AngIII w centralnym układzie nerwowym, może być traktowana jako nowy, potencjalny cel terapeutyczny w leczeniu nadciśnienia tętniczego. Po użyciu selektywnego i specyficznego inhibitora APA udowodniono, że angiotensyna III jest jednym z najistotniejszych efektorowych peptydów na szlaku mózgowego układu renina–angiotensyna, wywierając wpływ generujący wzrost ciśnienia tętniczego u hipertonicznych myszy. Z tych względów RB150 wydaje się prototypem nowej klasy leków hipotensyjnych o działaniu ośrodkowym. Jeśli inhibitory aminopeptydazy A będą stosowane jako leki przeciwnadciśnieniowe o aktywności centralnej, potrzebne jest dokładne zbadanie ich centralnej biodostępności po podaniu doustnym.

Transdermalne preparaty kaptoprilu

Zbadano możliwość stosowania kaptoprilu drogą przezskórną dzięki zastosowaniu zjawiska jontoforezy [74]. Należy pamiętać, że proces ten polega na wprowadzeniu cząstek obdarzonych ładunkiem elektrycznym do organizmu przez skórę lub śluzówkę za pomocą odpowiedniego urządzenia emitującego galwaniczny prąd stały. Wyniki doświadczeń *in vivo* dowiodły, że zastosowanie jontoforezy może istotnie zwiększyć transdermalny transport kaptoprilu bez istotnego podrażnienia skóry. Stężenie leku w osoczu krwi osiągało *plateau* po godzinie od aplikacji i utrzymywało się na tym samym poziomie przez okres trwania eksperymentu. Warto podkreślić, że nie stwierdzano obecności leku w surowicy krwi, w przypadku gdy nie zastosowano procesu jontoforezy. Ten sposób podawania leków może się okazać przyszłością terapii hipotensyjnej, choćby dlatego, że związek podany tą drogą nie ulega „efektowi pierwszego przejścia” w wątrobie, dzięki czemu uzyskuje się relatywnie większe stężenie leku w surowicy krwi.

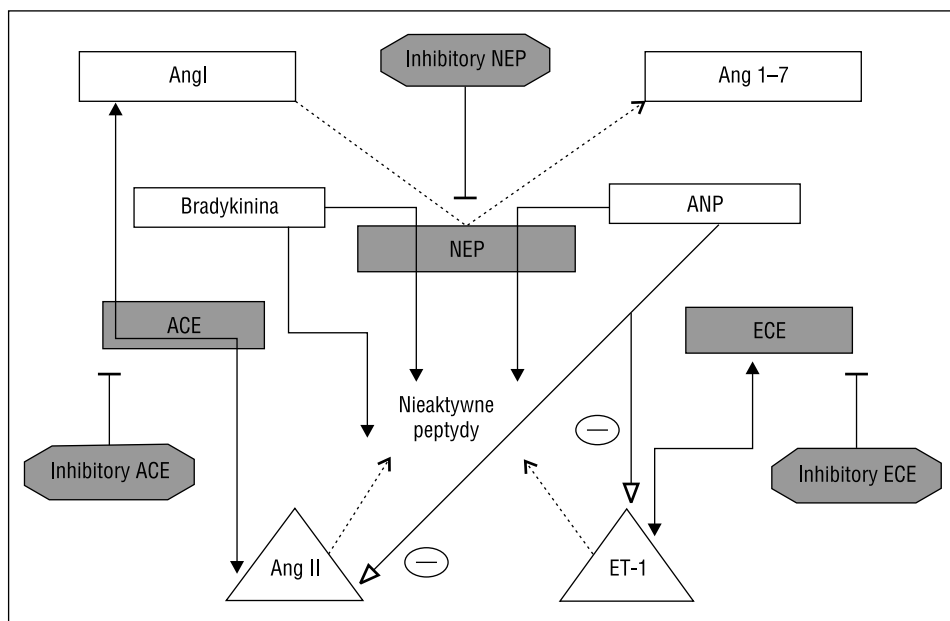
Inhibitory enzymu rozkładającego czynniki natriuretyczne

Przedsionkowy peptyd natriuretyczny (ANP, *atrial natriuretic peptide*) jest produkowany i przechowywany w przedsionkowych kardiomiocytach oraz uwalniany po mechanicznym rozciągnięciu ścian przedsionków [75, 76] lub pod wpływem bodźców chemicznych (endoteliny, katecholaminy itp.)

[77, 78]. Wpływ ANP na układ krążenia obejmuje: redukcję ciśnienia tętniczego, zwiększenie ilości moczu oraz działanie natriuretyczne. Przedsionkowy peptyd natriuretyczny zmniejsza sekrecję reniny i aldosteronu, produkcję endoteliny, proliferację naczyń w mięśniach gładkich i przerost mięśnia sercowego [79]. Przedsionkowy peptyd natriuretyczny i peptydy natriuretyczne są syntetyzowane w większej ilości u pacjentów cierpiących na nadciśnienie, przerost i niewydolność serca we wczesnym stadium [80]. Krótki okres półtrwania ANP wynika głównie z jego rozkładu przez enzym rozkładający czynniki natriuretyczne (NEP, *neutral endopeptidase*), który jest również odpowiedzialny za degradację hydrolityczną innych endogennych peptydów rozszerzających naczynia, takich jak bradykinina, i za konwersję AngI w wasorelaksacyjną Ang 1–7. Wydaje się również, że enzym rozkładający czynniki natriuretyczne bierze udział w degradacji peptydów zwężających naczynia, takich jak endotelina-1 i AngII, i w konwersji dużej endoteliny-1 do jej aktywnej postaci, endoteliny 1 [81–85]. W wyniku różnych działań (ryc. 4) wpływ na układ sercowo-naczyniowy wynikający z inhibicji enzymu rozkładającego czynniki natriuretyczne jest nieco sprzeczny: hamowanie tego enzymu powoduje skurcz, a nie rozszerzenie naczyń krwionośnych w naczyniach przedramienia [86]. Inhibitory enzymu rozkładającego czynniki natriuretyczne, jak na przykład **kandoksatril**, zwiększają ANP, ale bez obniżania ciśnienia krwi u osób z prawidłowym ciśnieniem, natomiast u pacjentów z nadciśnieniem zaobserwowano zarówno jego zmniejszenie, jak i zwiększenie [87–89]. Zasadna wydaje się zatem potrzeba dalszych badań nad wpływem selektywnych inhibitorów enzymu rozkładającego czynniki natriuretyczne w terapii chorób układu krążenia, aby można było mówić o ich roli w leczeniu nadciśnienia tętniczego.

Antagoniści receptora endoteliny

Ważnymi peptydami zaangażowanymi w homeostazę układu sercowo-naczyniowego są endoteliny produkowane głównie w śródbłonku naczyniowym. Endoteliny to rodzina (ET-1, ET-2 i ET-3) naturalnie występujących polipeptydów. Najbardziej istotny klinicznie ET-1 został zidentyfikowany w 1988 roku, kiedy był postrzegany przede wszystkim jako związek silnie zwężający naczynia. Dzisiaj już wiadomo, że odgrywa istotną rolę w fibrogenzie, stanach zapalnych, stresie oksydacyjnym, miażdżycy, gospodarce wodnej i mineralnej i nadciśnieniu w tętnicy płucnej [90–92]. Endoteliny wywierają wpływ



Objaśnienia skrótów znajdują się w tekście

Rycina 4. Schemat interakcji między ścieżkami proteolitycznymi ACE, ECE i NEP

Figure 4. Schematic representation of the interactions among the three proteolytic pathways ACE, ECE and NEP

poprzez agonistyczną interakcję ze specyficznymi receptorami: ETA (*endothelin type A receptor*), ETB (*endothelin type B receptor*) i niedawno scharakteryzowanym ETC (*endothelin type C receptor*) [93]. Stymulacja tych receptorów ma przeciwstawne działanie. Na przykład stymulacja ETA powoduje wazokonstrykcję, ale również działanie profibrynolityczne i prozapalne, natomiast stymulacja ETB powoduje rozszerzenie naczyń, działanie antyproliferacyjne i natriuretyczne. Niezależnie od różnych ról odgrywanych przez receptory ET, ogólna odpowiedź biologiczna na endoteliny to trwałe skurcz naczyń, łącznie z potężnym działaniem zwiększającym ciśnienie tętnicze. Dostarcza to racjonalnych podstaw dla rozwoju leków przeciwnadciśnieniowych opartych na antagonistach receptora ET [94]. Niektórzy autorzy odnotowali wzrost krążącej endoteliny 1 u pacjentów z nadciśnieniem i cukrzycą [95–97], wskazując na potencjalną wartość blokady receptora endoteliny. To podejście może mieć szczególne znaczenie u pacjentów z nadciśnieniem opornym, którzy już otrzymują standardową terapię przeciwnadciśnieniową.

Bosentan

Bosentan jest specyficznym, aktywnym po doustnym podaniu, nieselektywnym antagonistą receptora ETA i ETB, odpowiednim do długotrwałego podawania [98]. Użycie bosentanu u zwierząt było wyraźnie związane ze zmniejszeniem ciśnienia krwi [99],

sugerując, że ogólny wpływ antagonizmu nieselektywnych receptorów endoteliny wyraża się w rozszerzeniu naczyń krwionośnych. U pacjentów z samoistnym nadciśnieniem tętniczym bosentan spowodował znaczne obniżenie ciśnienia w zależności od dawki, podobne do redukcji przy przyjmowaniu enalaprilu [100]. Nie zaobserwowano istotnych zmian w częstości akcji serca. Bosentan nie powoduje aktywacji współczulnego układu nerwowego (określone przez pomiar stężenia noradrenaliny w osoczu) lub układu RAA (określone przez pomiar aktywności reniny w osoczu oraz stężenia angiotensyny II). Lek był dobrze tolerowany. Najczęstsze działania niepożądane to: ból głowy, zaczerwienienie twarzy i obrzęki kończyn.

Atrasentan

Receptory ETA i ETB znajdują się między innymi w komórkach mięśni gładkich i makrofagach. Stymulacja receptorów w tych miejscach jest ważna dla rozwoju reakcji prozapalnych/(pro)miażdżycowych. Zahamowanie działania endoteliny zmniejsza, a nawet odwraca rozwój uszkodzeń miażdżycowych w wielu zwierzęcych modelach miażdżycy [101]. Obserwacje te stały się podstawą badania [102], którego celem było określenie, czy istnieje angiograficzna progresja choroby wieńcowej po 6 miesiącach leczenia ETA-selektywnym antagonistą receptora endoteliny — **atrasentanem**. W badaniu tym angiograficznie nie stwierdzono progresji choroby wieńcowej. Do chwili obecnej nie ma jednak żad-

nych badań porównujących selektywną blokadę receptora ETA z nieselektywnymi ETA/ETB w miażdżycy. Warto również zauważyć, że w tych badaniach zarówno obwodowe, jak i centralne ciśnienie w aortcie zostały znacząco zredukowane. Zmniejszenie ciśnienia tętniczego wywołane atrasentanem było takie, jak w grupie antagonistów receptora endoteliny — **bosentanu** i **darusentanu** (selektywny antagonist receptoru ETA) [100, 103]. Działania niepożądane w tych badaniach spowodowane atrasentanem były podobne do tych obserwowanych wcześniej z innymi antagonistami receptora ETA i ETA/ETB, ale o znacznie wyższej częstotliwości. Ból i zawroty głowy, uczucie zatkanego nosa (90% pacjentów leczonych atrasentanem) to efekt klasy tych leków, który według wszelkiego prawdopodobieństwa wynika z rozszerzenia naczyń. Stwierdzono znaczne obrzęki kończyn i twarzy [102]. Stopień obrzęków obwodowych w przypadku stosowania darusentanu okazał się 10 razy mniejszy [104]. Mechanizm obrzęków obwodowych z czystym ETA i ETA/ETB mieszanym pozostaje nieokreślony, chociaż wydaje się zależny od dawki. W związku z częstymi działaniami niepożądanymi ustalono maksymalną dawkę atrasentanu na 10 mg/dobę.

Darusentan

Wspomniany już darusentan jest selektywnym antagonistą receptora typu A endoteliny z klasy kwasów propanowych. Podczas stosowania w monoterapii raz na dobę u pacjentów z nadciśnieniem tętniczym istotnie obniżał ciśnienie krwi [105, 106]. Jednak ze względu na potencjalne ryzyko związane ze stosowaniem antagonistów receptora endoteliny, w tym teratogenne, lek ten powinno się stosować tylko u pacjentów z nadciśnieniem opornym na leczenie. Dysponujemy jednak randomizowanym badaniem [107], z podwójnie ślepą próbą, w którym porównywano różne dawki darusentanu z placebo w leczeniu pacjentów z nadciśnieniem opornym [2]. W badaniu wzięli udział pacjenci z ciśnieniem skurczowym krwi 140 mm Hg lub więcej, którzy otrzymali co najmniej trzy leki obniżające ciśnienie tętnicze, w tym lek moczopędny, w pełnej lub maksymalnej tolerowanej dawce, oraz z poważnymi powikłaniami: cukrzycą, chorobami serca lub przewlekłą chorobą nerek. Darusentan redukował ciśnienie skurczowe i rozkurczowe krwi średnio o 18/10 mm Hg bez względu na dawkę. Główne działania niepożądane były związane z akumulacją płynu. Darusentan zapewnia zatem dodatkowe obniżenie ciśnienia krwi u pacjentów, którzy nie osiągną celów leczenia trzema lub większą liczbą leków hipotensyjnych.

BQ-123 i BQ-788

Systemowy i hemodynamiczny efekt antagonistów receptora ET i różnice pomiędzy działaniem selektywnych ETA, ETB i nieselektywnymi ETA/B zbadano u pacjentów z przewlekłą niewydolnością nerek (CRI, *chronic renal insufficiency*) z towarzyszącym nadciśnieniem tętniczym. Potencjalne korzyści antagonistów receptora endoteliny w CRI wynikają z tego, że nie tylko powodują one rozszerzenie naczyń krwionośnych [108, 109], obniżają ciśnienie krwi [100, 109], lecz również poprawiają zaburzenia czynności nerek w eksperymentalnych modelach choroby nerek [110]. Ze względu na potencjalnie przeciwstawne efekty receptorów ETA i ETB, bezpośrednio porównywano wpływ terapii z udziałem blokady receptorów ETA i ETB oddzielnie i łącznie u pacjentów zdrowych oraz z CRI. Przeprowadzono badanie [111] z selektywnymi antagonistami receptora ET: **BQ-123** (ETA) i **BQ-788** (ETB); BQ-123 podawane samo lub w skojarzeniu z BQ-788 obniżało ciśnienie krwi. W CRF BQ-123 powodowało zwiększenie nerkowego przepływu krwi oraz redukowało nerkowy opór naczyniowy. Zmianom tym towarzyszyło obniżenie efektywnej frakcji filtracyjnej; BQ-123, w monoterapii lub w skojarzeniu z BQ-788, miało minimalny wpływ na krążenie nerkowe w grupie zdrowych, zaś BQ-788 podawane samo powodowało zwężenie naczyń systemowych i nerkowych w przewlekłej niewydolności nerek i u osób zdrowych. Zatem antagonizm receptora ETA jest bardzo skuteczny w obniżeniu ciśnienia krwi u pacjentów z CRI leczonych hipotensyjnie. Poza tym efekty były zgodne z działaniem nefroprotekcijnym. Jednak ze względu na to, że receptor ETB wydaje się odgrywać kluczową rolę w utrzymaniu rozszerzenia nerkowych naczyń krwionośnych, nieselektywni antagoniści receptora ETA/B, mimo że obniżają ciśnienie, nie zapewniają korzyści nerkowych. Przyszłość stosowania leków tej klasy nie jest pewna. Do tej pory związki te zostały jedynie zatwierdzone do użytku u pacjentów z nadciśnieniem płucnym. Wyniki badań na modelach zwierzęcych w niewydolności serca, przewlekłej chorobie nerek, skurczu naczyń mózgowych i zaburzeniach erekcji nie spełniły pokładanych nadziei. Ponadto antagoniści receptora endoteliny mają znaczące działania niepożądane, zwłaszcza teratogenne, powodują wspomniane już znaczne obrzęki oraz zależną od dawki skłonność do wzrostu transaminaz.

Inhibitory enzymu konwertującego endotelinę

Inne podejście skierowane na hamowanie biosyntezy endoteliny wiąże się z inhibicją enzymu kon-

wertującego endotelinę (ECE, *endothelin converting enzyme*), odpowiedzialnego za proteolityczne przekształcenie nieaktywnej formy pośredniej endoteliny — wielkiej endoteliny, do aktywnej postaci, endoteliny 1. Ta klasa leków obejmuje różnorodne strukturalnie związki, takie jak **biarylpochodne** [112] i **chinazoliny** [113]: **PD 69185, PD 159790, CGS 35066, RO 67-7447, SM-19712**. Hipoteza o terapeutycznej przydatności inhibicji ECE jest wciąż rozpatrywana z powodu niezadowalających selektywności ECE-inhibitorów [94].

Inhibitory naczyniowej oksydazy NAD(P)H

Stres oksydacyjny ma istotne implikacje w patogenezie nadciśnienia tętniczego. Oksydaza NAD(P)H jest głównym źródłem nadtlenkowych anionów w naczyniach krwionośnych, a jej ekspresja i działanie są modulowane przez AngII działającą poprzez receptory AT1 [114]. W modelach doświadczalnych inhibitory NAD(P)H-monoaminooksydazy zmniejszają produkcję nadtlenków, zwiększają produkcję tlenu azotu i częściowo przywracają relaksację zależną od śródbłonna, zmniejszając formację neointymalną i obniżając ciśnienie tętnicze [114–116]. Większość tych związków nie jest specyficzna tylko dla NAD(P)H-oksydazy, a peptydowe inhibitory (**PR-39, p91ds-tat**) nie mogą być podawane doustnie, co ogranicza ich zastosowanie kliniczne.

Leki redukujące połączenia krzyżowe kolagenu

Wraz z procesem starzenia się organizmu u chorych na cukrzycę w mięśniu sercowym pojawiają się zaawansowane produkty końcowe glikacji (AGE, *advanced glycation end-products*) [117, 118], obecne także u chorych z chorobami związanymi z wiekiem: chorobą Alzheimera, chorobą Parkinsona, stwardnieniem zanikowym bocznym, zaćmą, nefropatią cukrzycową, miażdżycą tętnic, sztywnieniem ścian naczyń [119]. Tworzą one pomiędzy białkami, takimi jak kolagen i elastyna, trwałe połączenia krzyżowe zmniejszające elastyczność i podatność tkanek, w tym naczyń [117, 119]. W starzejącym się sercu krzyżowe połączenia pomiędzy włóknami kolagenu dają sygnał makrofagom do gromadzenia się w miokardium, powodując jego włóknienie i sztywność. Prowadzi to do pogorszenia funkcji rozkurczowej mięśnia sercowego [118]. Pobudzone przez AGE fibroblasty i inne komórki uwalniają cytokiny stymulujące rozrost macierzy zewnątrzkomórkowej [118].

Połączenia krzyżowe kolagenu powodują również wzrost reakcji prozapalnych i stresu oksydacyjnego, zwiększenie produkcji anionów nadtlenkowych oraz indukują przedwczesne starzenie się komórek endotelium [120]. Ograniczenie szkodliwych efektów wywołanych przez końcowe produkty glikacji na układ sercowo-naczyniowy jest więc potencjalną metodą terapeutyczną prewencji szkodliwych następstw związanych z nadciśnieniem tętniczym, cukrzycą i starzeniem [120]. Niekorzystne działania mogą być hamowane na kilku etapach, jak na przykład hamowanie tworzenia i niszczenie już utworzonych końcowych produktów glikacji (leki usuwające krzyżowe połączenia białkowe) czy hamowanie efektów wywołanych połączeniem z receptorem (inhibitory tworzenia krzyżowych połączeń białkowych). **Alagebrium** (ALT-711) — eliminator wiązań krzyżowych w produktach zaawansowanej glikacji (*AGE cross-link breaker*) katalitycznie łamie wiązania krzyżowe końcowych produktów glikacji. U zaawansowanych wiekiem zwierząt z nadciśnieniem tętniczym i cukrzycą, alagebrium obniża ciśnienie skurczowe oraz sztywność aorty i miocardium, spowalnia tętno, poprawia rozkurczową podatność komór i pojemność minutową serca, ogranicza cukrzycowe stwardnienie tętnic nerkowych i zmniejsza wydalanie białka z moczem [118, 120, 121]. U pacjentów w podeszłym wieku alagebrium zmniejsza ciśnienie tętna i prędkość fali tętna, poprawia podatność naczyń [122], zmniejsza ciśnienie skurczowe, szczególnie u chorych nieodpowiadających na standardowe leki hipotensyjne i jest dobrze tolerowane [118]. Dalsze badania pacjentów w podeszłym wieku z izolowanym skurczowym nadciśnieniem tętniczym, niewydolnością serca oraz nefropatią cukrzycową są w toku [118].

Inhibitory kinazy Rho

Skurcz mięśni gładkich naczyń krwionośnych jest kontrolowany przez koncentrację wolnego cytozolowego Ca²⁺ i wrażliwych na wapń białek kurczliwych [123], których uczulenie na wapń zależy od kinazy RhoA/Rho regulującej stopień fosforylacji łańcuchów lekkich miozyny (MLC, *myosin light chain*) przez fosfatazy fosforylujące [123–125]. Szlak kinazy RhoA/Rho jest zintensyfikowany u pacjentów z nadciśnieniem tętniczym [124–127]. Selektywne inhibitory kinazy Rho (**Y-27632, fasudil, hydroxyfasudil, KI-2309**) zmniejszają napięcie mięśni gładkich naczyń krwionośnych, obniżają ciśnienie krwi, hamują przebudowę układu krążenia i zmniejszają dysfunkcję śródbłonna w modelach zwierzęcych z nad-

ciśnieniem tętniczym [124–126], normalizują produkcję nadtlenu, zmniejszają obwodowy opór naczyniowy i hamują rozwój wieńcowej i mózgowej wazokonstrykcji [124–127]. Z tego powodu kinaza Rho jest obiecującym celem terapeutycznym w samoistnym nadciśnieniu tętniczym.

Modulatory nerkowej Na/K ATPazy

Pompa sodowo-potasowa (Na⁺/K⁺ATPaza) uczestniczy w aktywnym transporcie kationów sodu i potasu. Miejsce wiązania ATP znajduje się na podjednostce α , na której znajdują się również miejsca wiązania dla steroidów kardiologicznych, które hamują aktywność enzymatyczną pompy. Do poznanych steroidów kardiologicznych zalicza się kardenolidy (ouabaina, digoksyna) oraz bufadienolidy (proscillarydyna A, 19-norbufalina, telocinobufagenina, marinobufagenina, resibufagenina). Pojawia się coraz więcej danych odnośnie roli endogennych czynników naparstnicopodobnych (DLF, *endogenous digitalis-like factors*) w etiopatogenezie pierwotnego nadciśnienia tętniczego [128–130]. Wszystkie te związki są unieczynniane przez przeciwciała antidigoksynowe. Są one syntetyzowane z cholesterolu, dlatego statyny, hamując jego syntezę, obniżają syntezę steroidów kardiologicznych [131]. W badaniach przeprowadzonych na modelach zwierzęcych i w badaniach klinicznych wykazano, że DLF uczestniczą w regulacji ciśnienia tętniczego, a także mają wpływ na kurczliwość mięśnia sercowego i rytm serca [128]. Wiadomo, że hipertensyjne działanie wysokich poziomów DLF wynika z zahamowania aktywności Na⁺/K⁺ATPazy w komórkach mięśni gładkich naczyń, kardiomiocytach i neuronach adrenergicznych [129]. Znaczenie ouabainy w patogenezie nadciśnienia tętniczego potwierdzają wyniki badań z zastosowaniem syntetycznego steroidu kardiologicznego — **rostafuloksyny** — będącego antagonistą ouabainy. Podawanie rostafuloksyny obniża ciśnienie tętnicze zarówno u zwierząt doświadczalnych, jak i u chorych na samoistne nadciśnienie tętnicze [132]. Oprócz korzystnego efektu hipotensyjnego rostafuloksyna hamuje również postęp niewydolności serca przez hamowanie niekorzystnej przebudowy (remodeling) mięśnia sercowego. Lek jest obecnie w II fazie badań klinicznych. Rośnie także zainteresowanie poliklonalnymi przeciwciałami skierowanymi przeciw DLF (głównie digoksynie), a także kompetywnymi inhibitorami wiązania DLF z Na⁺/K⁺ATPazą (PST 2238) jako nową grupą leków hipotensyjnych [129]. W związku z tym ciekawą metodą ingerencji farmakologicznej jest dożylna poda-

nie fragmentu FAB przeciwciał przeciw ouabainie (Digibind). Jednak ze względu na drogę podania leku (parenteralnie) takie postępowanie terapeutyczne można zastosować jedynie w szczególnych postaciach nadciśnienia tętniczego, takich jak stany nagłe. Również pozajelitowe podanie zwierzętom doświadczalnym resibufogeniny (steroidu kardiologicznego będącego antagonistą marinobufageniny) powoduje obniżenie ciśnienia tętniczego [133]. Być może stosowanie tego związku może się okazać przydatne w hamowaniu rozwoju powikłań narządowych nadciśnienia tętniczego, w tym przerostu i włóknienia mięśnia sercowego. W badaniach przedklinicznych **PST 2238**, inhibitor wiązania DLF z Na⁺/K⁺ATPazą, zmniejszał wzrost ciśnienia krwi wywołany przez endogenne steroidy kardiologiczne i normalizował (nad)aktywność pompy nerkowej u szczurów [134]; **PST 2238** może być przydatny u pacjentów z nadciśnieniem tętniczym z nieprawidłowym nerkowym wydalaniem sodu. Antagoniści steroidów kardiologicznych stanowią potencjalnie nową grupę leków przeciwnadciśnieniowych o unikalnym mechanizmie działania, łączącym stymulację natriurezy z działaniem naczyniorozkurczającym i hamowaniem niekorzystnych procesów przebudowy układu sercowo-naczyniowego prowadzących do utrwalenia nadciśnienia tętniczego.

Leki otwierające kanał potasowy (K⁺)

Aktywacja kanałów K⁺ indukuje hiperpolaryzację błony, zmniejsza koncentrację (Ca²⁺) i powoduje zmniejszenie napięcia ścian tętniczek oraz obniżenie ciśnienia tętniczego krwi [135]. Kilka endogennych związków rozszerzających naczynia wywiera wpływ poprzez aktywację kanałów K⁺. W modelach zwierzęcych podwyższone ciśnienie krwi jest związane ze zmniejszeniem aktywności β_1 podjednostki (Kcncb1) kanałów K⁺ (BK) aktywowanych przez jony Ca²⁺ [136]. Natomiast mutacja podjednostki β_1 wiąże się ze zmniejszeniem występowania nadciśnienia rozkurczowego [137]. Stanowi to podstawę dla stworzenia środków wpływających na podjednostkę β_1 . **Iptakalim**, związek otwierający kanał potasowy K⁺, powoduje długotrwałe rozszerzenie naczyń bez zmiany rytmu serca, odwraca nadciśnieniową przebudowę układu krążenia i zmniejsza uwalnianie endoteliny z komórek śródbłonna [138].

Antagoniści urotensyny II

Oddziaływanie cyklicznego peptydu **urotensyny II** (U-II) ze swoistymi receptorami powoduje, że jest

on endogennym czynnikiem mającym wpływ na układ krążenia [139]. Specyficznym receptorem dla urotensyny II jest powierzchnia komórkowa w połączeniu z białkiem G — receptor GPCR, *G-protein coupled receptor*) powszechnie występujący w układzie sercowo-naczyniowym i nerkach ssaków [140, 141]. Pobudzenie receptora UT wyraża się w reakcji skurczowej komórek mięśni gładkich naczyń krwionośnych, U-II jest prawdopodobnie najpotężniejszym wazokonstryktorem, nawet 100-krotnie silniejszym od endoteliny [142–144]. Zwężenie naczyń jest jednak częściowo równoważone przez zdolność UT-II do indukowania uwolnienia śródbłonkowych czynników wazorelaksacyjnych, takich jak NO i prostacykliny (PGI₂) [145, 146]. W związku z tym hemodynamiczne efekty U-II mogą być postrzegane jako suma bezpośredniego działania na serce i mięśnie gładkie naczyń, co prowadzi do ogólnej działalności zwiększającej ciśnienie tętnicze [139]. Obok wielu dobrze scharakteryzowanych antagonistów peptydowych [147], które posiadają ograniczone zastosowanie kliniczne, pojawiło się kilka niepeptydowych UT-antagonistów. Pierwszy należy do grupy pochodnych indolu, takich jak związek **S6716** [148], drugim jest **ACT-058362 (palurosan)** [149], kolejne związki o symbolach: WO 02/76979, WO 03/48154-A1, WO 04/99180-A1, WO 04/26836-A2 [150–153]. Wstępne dane kliniczne uzyskane od pacjentów narażonych na rozwój chorób nerek wskazują na korzystny profil tolerancji i spadek 24-godzinny wydalania albumin z moczem, które można wykorzystać u chorych na cukrzycę z niewydolnością nerek [154]. Konieczna jest dalsza szczegółowa charakterystyka całego profilu farmakologicznego tych związków; obecnie UT-antagoniści mogą być postrzegani jako nowe i obiecujące narzędzie terapeutyczne, potencjalnie przydatne w terapii nadciśnienia tętniczego.

Szczepionka w leczeniu nadciśnienia tętniczego — *angiotensin therapeutic vaccine (ATV)*

Szczepienie to nowe podejście w terapii nadciśnienia tętniczego. Można wyróżnić dwa powody atrakcyjności takiego szczepienia. Jednym z nich jest obejście problemu nieregularnego stosowania przez pacjenta leków doustnych. Drugim — zapewnienie środków na blokowanie lub hamowanie szlaków, na które nie ma leków doustnych. Ponieważ pierwsze szczepionki angiotensynowe powstały w celu inhibicji AngII, byłyby one idealnym rozwiązaniem dla pacjentów, którzy nie chcą podjąć się codziennego

leczenia doustnego, u których inhibicja układu renina—angiotensyna (RAS, *renin-angiotensin system*) byłaby wystarczającą terapią w celu osiągnięcia dobrej kontroli ciśnienia krwi. Ponieważ starsi pacjenci, oprócz inhibitora RAS, wymagają zwykle antagonisty kanału wapniowego i diuretyku, może się okazać, że szczepienia są najbardziej atrakcyjne dla pacjentów młodszych zarówno dlatego, że jest bardziej prawdopodobne, że ich ciśnienie krwi może być kontrolowane przez samą szczepionkę, i dlatego że tacy pacjenci często odmawiają rozpoczęcia długoterminowej terapii doustnej. Szczepionka może tym bardziej zachęcić do stosowania inhibitorów RAS w młodszym wieku, skoro dane doświadczalne sugerują, że może zapobiec lub wyleczyć nadciśnienie tętnicze [155]. Aktualnie w fazie badań są dwie szczepionki: **PMD3117** i **CYT006-AngQb**; **PMD3117** składa się z 12 aminokwasów analogicznych do angiotensyny I, w którym deka-peptyd został przedłużony o acetylocysteino-glicynę na N-końcu i kowalencyjnie związany z hemocyjaniną ślimaka morskiego (KLH, *keyhole limpet hemocyanin*). Po podaniu szczepionki wykazano spadek wydzielania aldosteronu i tłumienie normalnego spadku reniny w osoczu, w chwili kiedy podawanie tradycyjnego inhibitora RAS (inhibitora ACE lub ARB) zostało przerwane. Szczepionka PMD3117 ma postać zawiesiny wodnej, którą wytwarza się poprzez adsorpcję na zarejestrowanym adiuwancie wodorotlenku glinu (Alhydrogel™). Badanie fazy IIa zostało wstrzymane w kwietniu 2009 roku po tym, jak u kilku pacjentów wystąpiły reakcje w miejscu wstrzyknięcia (zaczerwienienie i/lub obrzęk) oraz objawy grypopodobne. Dane wskazują, że działania niepożądane były zwykle związane z dawką środka pomocniczego, a nie z samą szczepionką. W kontynuacji fazy IIa będzie stosowana nowa formuła z adiuwantem CoVaccine HT™, która wykazała w przedklinicznych badaniach 10-krotnie wyższe miano przeciwciał. Co więcej, poprzednia formuła obniżała ciśnienie krwi u zdrowych ochotników, ale nie u pacjentów z nadciśnieniem tętniczym [156]. Druga szczepionka, **CYT006-AngQb**, jest skoniugowaną szczepionką składającą się z angiotensyny II chemicznie związanej z wirusopodobną cząsteczką białkową (VLP, *virus-like particle*) uzyskaną z RNA faga [157]. Immunizacja i wpływ na ciśnienie tętnicze zostały przetestowane na modelu z wykorzystaniem szczurów z nadciśnieniem tętniczym (SHR, *spontaneously hypertensive rat*). Wykazano, że użyta szczepionka indukuje wzrost stężenia przeciwciał swoistych dla angiotensyny II i w konsekwencji redukuje wartości ciśnienia tętniczego u zwierząt w porównaniu z grupą kontrolną. W wielośrodkowym, po-

dwójnie ślepy, randomizowany, kontrolowany placebo badaniu fazy IIa zauważono zależną od dawki redukcję średniego dziennego ciśnienia tętniczego i zmniejszenie porannego wzrostu ciśnienia w porównaniu z placebo. Wzrost stężenia reniny po szczepieniu był mniejszy niż 25%, nie stwierdzono istotnych różnic pomiędzy grupą placebo i grupami aktywnymi w zakresie maksymalnego stężenia reniny w osoczu. To kontrastuje z kilkukrotnym zwiększeniem aktywności reninowej osocza obserwowanym po konwencjonalnym hamowaniu inhibitorami RAS (ACE, ARB lub bezpośredni inhibitor reniny) [158]. Dotychczasowe wyniki pokazują, że immunoterapia z wykorzystaniem peptydów pochodzących z angiotensyny II i połączonych z VLP może stanowić nowe podejście w leczeniu nadciśnienia tętniczego. Brak wyraźnego wzrostu stężenia reniny powinien wzbudzić wątpliwości co do skali inhibicji układu renina-angiotensyna osiągniętej przez szczepienia, ponieważ tylko bezpośrednia ingerencja w wydzielanie reniny może pokazać rozmiar wpływu na angiotensynę II [159]. Miana przeciwciał były podobne w badaniach obu szczepionek. Choć immunizacja wydaje się osiągnąć efekty farmakologiczne u szczurów [160, 161], przed szczepieniem u ludzi jest wymagana lepsza immunogenność i dopiero wtedy mogłoby stać się ono alternatywą dla istniejących inhibitorów RAA w zakresie wpływu na ciśnienie krwi u pacjentów z nadciśnieniem tętniczym. Obie szczepionki były dobrze tolerowane, nie dając wyraźnych dowodów na tworzenie kompleksów immunologicznych.

Podsumowując, terapeutyczne szczepienie to nowa droga w rozwoju terapii nadciśnienia tętniczego. Wyniki badań u pacjentów z nadciśnieniem tętniczym na razie wykazują niewielką skuteczność szczepionek. Zatem jest wymagana zmiana immunogenu lub adiuwantu w celu zwiększenia miana przeciwciał po immunizacji. Pojawiają się jednak głosy podważające sens immunizacji lub krytykujące brak wystarczających danych uzyskanych w badaniach na zwierzętach przed przystąpieniem do kolejnych etapów badań klinicznych. Jednym z koronnych argumentów przeciwników szczepionki na nadciśnienie jest fakt wzbudzania immunologicznej odpowiedzi organizmu przeciwko składowym układu RAA, który pełni przecież określoną funkcję.

Streszczenie

Pomimo obecności na rynku farmaceutycznym wielu preparatów hipotensyjnych skuteczność terapii

nadciśnienia tętniczego jest ciągle wysoce niezadowalająca. Wprowadzenie nowych leków obniżających ciśnienie tętnicze niewątpliwie poprawiłoby jej efektywność. W niniejszej pracy autorzy przedstawili badane obecnie patofizjologiczne mechanizmy, których znajomość może pomóc w syntezie i wprowadzeniu na rynek farmaceutyczny nowych leków hipotensyjnych, a także omówili innowacyjne związki chemiczne, które mają szansę wzbogacić w niedalekiej przyszłości farmakologiczne możliwości terapii nadciśnienia. Pokróćce przedstawili zwłaszcza związki wykazujące działania agonistyczne w stosunku do angiotensyny 1–7, hamujące biosyntezę, lub receptory endoteliny, inhibitory mózgowej aminopeptydazy i naczyniowej oksydazy, wreszcie nowe preparaty otwierające kanał potasowy oraz uwalniające tlenek azotu. W drugiej części pracy pokrótce zaprezentowali badania dotyczące związków wykazujących równoczesne działanie na dwa szlaki metaboliczne prowadzące do obniżenia ciśnienia tętniczego, na przykład preparaty, które działają zarówno na konwertazę angiotensyny, jak i syntezę peptydu natriuretycznego lub leki z grupy antagonistów wapnia, które hamują zarówno kanał wapniowy typu L, jak i kanał T. Omawiane preparaty pozostają na różnych etapach zaawansowania badań farmakologicznych i klinicznych, można się jednak spodziewać, że przynajmniej niektóre z nich w stosunkowo niedalekiej przyszłości znajdą zastosowanie w terapii nadciśnienia tętniczego.

słowa kluczowe: nadciśnienie tętnicze, receptor MAS, receptor ET, receptor AT1, angiotensyna 1–7, leki o mnogich mechanizmach działania, ACE, ECE, NEP, leki uwalniające tlenek azotu
Nadciśnienie Tętnicze 2010, tom 14, nr 4, strony 235–252.

Piśmiennictwo

- 2003 European Society of Hypertension/European Society of Cardiology guidelines for the management of arterial hypertension. *J. Hypertens.* 2003; 21: 1011–1053.
- Seventh Report of the Joint National Committee on Prevention, Detection, Evaluation and Treatment of High Blood Pressure. *Hypertension* 2003; 42: 1206–1252.
- Mancia G., DeBacker G., Dominiczak A. i wsp. 2007 guidelines for the management of arterial hypertension: the task force for the management of arterial hypertension of the European Society of Hypertension (ESH) and the European Society of Cardiology (ESC). *Eur. Heart J.* 2007; 28: 1462–1536.
- Calhoun D.A., Jones D., Trexter S. i wsp. Resistant hypertension: diagnosis, evaluation, and treatment. A scientific statement from the American Heart Association Professional Education Committee of the Council for High Blood Pressure Research. *Hypertension* 2008; 51: 403–419.
- Jones J.K., Gorkin L., Lian J.F. i wsp. Discontinuation of and changes in treatment after start of new courses of antihy-

- pertensive drugs: a study of a United Kingdom population. *BMJ* 1995; 311: 293–295.
6. Brenner B.M., Cooper M.E., de Zeeuw D. i wsp. for the RENAAL Study Investigators. Effects of losartan on renal and cardiovascular outcomes in patients with type 2 diabetes mellitus and nephropathy. *N. Engl. J. Med.* 2001; 345: 861–869.
 7. Lewis E.J., Hunsicker L.G., Clarke W.R. i wsp. Collaborative Study Group. Renoprotective effect of the angiotensin receptor antagonist irbesartan in patients with nephropathy due to type 2 diabetes. *N. Engl. J. Med.* 2001; 345: 851–860.
 8. Parving H.-H., Lehnert H., Brochou-Mortenson J., Gomis R., Andersen S., Amer P. The effect of irbesartan on the development of diabetic nephropathy in patients with type 2 diabetes. *N. Engl. J. Med.* 2001; 345: 870–878.
 9. Campbell D.J., Alexiou T., Xiao H.D. i wsp. Effect of reduced angiotensin-converting enzyme gene expression and angiotensin-converting enzyme inhibition on angiotensin and bradykinin peptide levels in mice. *Hypertension* 2004; 43: 854–859.
 10. Kirimura K., Takai S., Jin D. i wsp. Role of chymase-dependent angiotensin II formation in regulating blood pressure in spontaneously hypertensive rats. *Hypertens. Res.* 2005; 28: 457–464.
 11. Brown N.J., Nakamura S., Ma L. Aldosterone modulates plasminogen activator inhibitor-1 and glomerulosclerosis *in vivo*. *Kidney Int.* 2000; 58: 1219–1227.
 12. Hyla-Klekot L., Pulcer B., Kokot F. Układ renina–angiotensyna–aldosteron (RAA) — nowe aspekty patogenetyczne i lecznicze. Część 1. Proreninarenina i jej receptory, konwertaza angiotensyny-1–10, angiotensyna-1–8 i jej receptor, trzewna tkanka tłuszczowa jako źródło syntezy ogólnego układu RAA. *Nadciśnienie Tętnicze* 2007; 11: 242.
 13. Hyla-Klekot L., Pulcer B., Kokot F. Układ renina–angiotensyna–aldosteron — nowe aspekty patogenetyczne i lecznicze. Część 2. Aldosteron — ważny induktor szlaków patogenetycznych uszkodzających układ sercowo-naczyniowy i nerki. *Nadciśnienie Tętnicze* 2007; 11: 307.
 14. Li N., Zimpelmann J., Cheng K. i wsp. The role of angiotensin converting enzyme 2 in the generation of angiotensin 1–7 by rat proximal tubules. *Am. J. Physiol.* 2005; 288: F353–362.
 15. Danser A.H.J., Deinum J. Renina, prorenina i domniemany receptor (pro)reniny. *Hypertension. Wyd. polskie* 2006; 2: 22–29.
 16. Nguyen G. Renin/prorenin receptors. *Kidney Int.* 2006; 69: 1503–1506.
 17. Nguyen G. The (pro)renin receptor: pathophysiological roles in cardiovascular and renal pathology. *Curr. Opin. Nephrol. Hypertens.* 2007; 16: 129–133.
 18. Toffelmire E.B., Slater K., Corvol P. i wsp. Response of plasma prorenin and active renin to chronic and acute alterations of renin secretion in normal humans. *J. Clin. Invest.* 1989; 83: 679–687.
 19. Oliver J.A. Receptor-mediated actions of renin and prorenin. *Kidney Int.* 2006; 69: 13–15.
 20. Suzuki F., Hayakawa M., Nagakawa T. i wsp. Human prorenin has “gates and handle” regions for its nonproteolytic activation. *J. Biol. Chem.* 2003; 278: 22217–22222.
 21. Huang Y., Wongamorntham S., Kasting J. i wsp. Renin increases mesangial cell transforming growth factor- β 1 and matrix protein through receptor-mediated angiotensin II independent mechanisms. *Kidney Int.* 2006; 69: 105–113.
 22. Ichihara A., Suzuki F., Nakagawa T. i wsp. Prorenin receptor blockade inhibits development of glomerulosclerosis in diabetic angiotensin II type 1a receptordeficient mice. *J. Am. Soc. Nephrol.* 2006; 17: 1950–1961.
 23. Ichihara A., Hayashi M., Kaneshiro Y. i wsp. Inhibition of diabetic nephropathy by a decoy peptide corresponding to the „handle” region for nonproteolytic activation of prorenin. *J. Clin. Invest.* 2004; 11: 1128–1135.
 24. Ichihara A., Kaneshiro Y., Takemitsu T. i wsp. Nonproteolytic activation of prorenin contributes to development of cardiac fibrosis in genetic hypertension. *Hypertension* 2006; 47: 894–900.
 25. Peters J., Farrenkopf R., Clausmeyer S. i wsp. Functional significance of prorenin internalization in the rat heart. *Cir. Res.* 2002; 90: 1135–1141.
 26. Burckle C.A., Danser A.H.J., Müller D.N. i wsp. Elevated blood pressure and heart rate in human renin receptor transgenic rats. *Hypertension* 2006; 47: 552–556.
 27. Kaneshiro Y., Ichihara A., Takemitsu T. i wsp. Increased expression of cyclooxygenase-2 in the renal cortex of human prorenin receptor gene–transgenic rats. *Kidney Int.* 2006; 70: 641–646.
 28. Price D.A., Porter L.E., Gordon M. i wsp. The paradox of low renin state in diabetic nephropathy. *J. Am. Soc. Nephrol.* 1999; 10: 2382–2391.
 29. Gross F., Lazar J., Orth H. Inhibition of the renin–angiotensinogen reaction by pepstatin. *Science* 1972; 175: 656.
 30. Hui K.Y., Carlson W.D., Bernatowicz M.S., Haber E. Analysis of structure-activity relationships in renin substrate analogue inhibitory peptides. *J. Med. Chem.* 1987; 30: 1287–1295.
 31. Bolis G., Fung A.K., Greer J. i wsp. Renin inhibitors. Di-peptide analogues of angiotensinogen incorporating transition-state, nonpeptidic replacements at the scissile bond. *J. Med. Chem.* 1987; 30: 1729–1737.
 32. Stanton A. Therapeutic potential of renin inhibitors in the management of cardiovascular disorders. *Am. J. Cardiovasc. Drugs* 2003; 3: 389–394.
 33. Wood J.M., Cumin F., Maibaum J. Pharmacology of renin inhibitors and their application to the treatment of hypertension. *Pharmacol. Ther.* 1994; 61: 325–344.
 34. Nguyen G., Delarue F., Berrou J., Rondeau E., Sraer J.D. Specific receptor binding of renin on human mesangial cells in culture increases plasminogen activator inhibitor-1 antigen. *Kidney Int.* 1996; 50: 1897–1903.
 35. Huang Y., Wongamorntham S., Kasting J. i wsp. Renin increases mesangial cell transforming growth factor beta 1 and matrix proteins through receptor-mediated, angiotensin II-independent mechanisms. *Kidney Int.* 2006; 69: 105–113.
 36. Huang Y., Noble N.A., Zhang J., Xu C., Border W.A. Renin-stimulated TGF- β 1 expression is regulated by mitogen-activated protein kinase in renal mesangial cells. *Kidney Int.* 2007; 72: 45–52.
 37. Feldman D.L., Jin L., Xuan H. i wsp. Effects of aliskiren on blood pressure, albuminuria, and (pro)renin receptor expression in diabetic TG(mRen–2)27 rats. *Hypertension.* 2008; 52: 130–136.
 38. Nguyen G., Delarue F., Burckle C., Bouzahir L., Giller T., Sraer J.D. Pivotal role of the renin/prorenin receptor in angiotensin II production and cellular responses to renin. *J. Clin. Invest.* 2002; 109: 1417–1427.
 39. Jensen C., Herold P., Brunner H.R. Aliskiren: the first renin inhibitor for clinical treatment. *Nature Rev. Drug Dis.* 2008; 7: 399–410.
 40. Nussberger J., Wuerzner G., Jensen C., Brunner H.R. Angiotensin II suppression in humans by the orally active renin

- inhibitor Aliskiren (SPP100): comparison with enalapril. *Hypertension* 2002; 39: E1–E8.
41. Stanton A., Jensen C., Nussberger J. i wsp. Blood pressure lowering in essential hypertension with an oral renin inhibitor, aliskiren. *Hypertension* 2003; 42: 1137–1143.
 42. Gradman A.H., Schmieder R.E., Lins R.L. i wsp. Aliskiren, a novel orally effective renin inhibitor, provides dose-dependent antihypertensive efficacy and placebo-like tolerability in hypertensive patients. *Circulation* 2005; 111: 1012–1018.
 43. Carey R.M. Antihypertensive and renoprotective mechanisms of renin inhibition in diabetic rats. *Hypertension* 2008; 52: 63–64.
 44. Burrell L., Johnston C., Tikellis C., Cooper M. ACE2, a new regulator of the renin–angiotensin system. *Trends Endocrinol. Metab.* 2004; 15: 166–169.
 45. Fleming I., Kohlstedt K., Busse R. New fACEs to the renin–angiotensin system. *Physiology* 2005; 20: 91–95.
 46. Burns K.D. The emerging role of angiotensin-converting enzyme-2 in the kidney. *Curr. Opin. Nephrol. Hypertens.* 2007; 16: 116–121.
 47. Yagil Y., Yagil C. Hypothesis: ACE2 modulates blood pressure in the mammalian organism. *Hypertension* 2003; 41: 871–873.
 48. Santos R.A.S., Ferreira A.J. Angiotensin (1–7) and the renin–angiotensin system. *Curr. Opin. Nephrol. Hypertens.* 2007; 16: 122–128.
 49. Paula R.D., Lima C.V., Khosla M.C., Santos R.A. Angiotensin-(1–7) potentiates the hypotensive effect of bradykinin in conscious rats. *Hypertension* 1995; 26: 1154–1159.
 50. Oliveira M.A., Fortes Z.B., Santos R.A., Kosla M.C., De Carvalho M.H. Synergistic effect of angiotensin-(1–7) on bradykinin arteriolar dilation *in vivo*. *Peptides* 1999; 20: 1195–1201.
 51. Ueda S., Masumori-Maemoto S., Wada A., Ishii M., Brosnihan K.B., Umemura S.J. Angiotensin(1–7) potentiates bradykinin-induced vasodilatation in man. *J. Hypertens.* 2001; 19: 2001–2009.
 52. Carey R.M., Siragy H.M. Newly recognized components of the renin–angiotensin system: potential roles in cardiovascular and renal regulation. *Endocr. Rev.* 2003; 24: 261–271.
 53. Santos R.A., Simoes Silva A.C., Maric C. Angiotensin (1–7) is an endogenous ligand for the G protein-coupled receptor Mas. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 2003; 100: 8258–8263.
 54. Santos R.A.S., Ferreira A.J., Pinheiro S.V. i wsp. Angiotensin (1–7) and its receptor as a potential target for new cardiovascular drugs. *Expert. Opin. Investig. Drugs* 2005; 14: 1019–1031.
 55. Sampaio W.O., Souza dos Santos R.A., Faria-Silva R., da Mata Machado L.T., Schifffrin E.L., Touyz R.M. Angiotensin-(1–7) through receptor Mas mediates endothelial nitric oxide synthase activation via Akt-dependent pathways. *Hypertension* 2007; 49: 185–192.
 56. Santos, R.A., Ferreira, A.J. Angiotensin-(1–7) and the renin–angiotensin system. *Curr. Opin. Nephrol. Hypertens.* 2007; 16: 122–128.
 57. Wiemer G., Dobrucki L.W., Louka F.R., Malinski T., Heitsch H. AVE 0991, a nonpeptide mimic of the effects of angiotensin-(1–7) on the endothelium. *Hypertension* 2002; 40: 847–852.
 58. Tran T.-A., Han S. International Patent Number, WO 2007002114 (2007).
 59. Ferreira A.J., Jacoby B.A., Araujo C.A.A. i wsp. The non-peptide angiotensin-(1–7) receptor Mas agonist AVE-0991 attenuates heart failure induced by myocardial infarction. *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* 2007; 292: H1113–H1119.
 60. Ganten D., Hermann K., Bayer C., Unger T., Lang R.E. Angiotensin synthesis in the brain and increased turnover in hypertensive rats. *Science* 1983; 221: 869–871.
 61. Reaux A., de Mota N., Zini S. i wsp. PC18, a specific aminopeptidase N inhibitor, induces vasopressin release by increasing the half-life of brain angiotensin III. *Neuroendocrinology* 1999; 69: 370–376.
 62. Oparil S., Chen Y.F., Berecek K.H., Calhoun D.A., Wyss J.M. The role of central nervous system in hypertension. W: Laragh J.H., Brenner B.M. (red.). *Hypertension: Pathology, Diagnosis and Management*. New York 1995: 42: 713–740.
 63. Guyenet P.G. The sympathetic control of blood pressure. *Nat. Rev. Neurosci.* 2006; 7: 335–346.
 64. Douglas J.G. Angiotensin receptor subtypes of the kidney cortex. *Am. J. Physiol.* 1987; 253: F1–F7.
 65. Wright J.W., Harding J.W. Brain angiotensin receptor subtypes AT1, AT2, and AT4 and their functions. *Regul. Pept.* 1995; 59: 269–295.
 66. Phillips M.I. Functions of angiotensin in the central nervous system. *Annu. Rev. Physiol.* 1987; 49: 413–435.
 67. Wright J.W., Harding J.W. Important role for angiotensin III and IV in the brain renin–angiotensin system. *Brain Res. Brain Res. Rev.* 1997; 25: 96–124.
 68. Chauvel E.N., Coric P., Llorens-Cortes C., Wilk S., Roques B.P., Fournie-Zaluski M.C. Investigation of the active site of aminopeptidase a using a series of new thiol-containing inhibitors. *J. Med. Chem.* 1994; 37: 1339–1346.
 69. Fournie-Zaluski M.C., Coric P., Turcaud S. i wsp. “Mixed inhibitor-prodrug” as a new approach toward systemically active inhibitors of enkephalin-degrading enzymes. *J. Med. Chem.* 1992; 35: 2473–2481.
 70. Reaux A., Fournie-Zaluski M.C., David C. i wsp. Aminopeptidase a inhibitors as potential central antihypertensive agents. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 1999; 96: 13415–13420.
 71. Fournie-Zaluski M.C., Fassot C., Valentin B. i wsp. Brain renin–angiotensin system blockade by systemically active aminopeptidase A inhibitors: a potential treatment of salt dependent hypertension. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 2004; 101: 7775–7780.
 72. Reaux-Le Goazigo A., Iturrioz X., Fassot C. i wsp. Role of angiotensin III in hypertension. *Curr. Hypertens. Rep.* 2005; 7: 128–134.
 73. Bodineau L., Frugière A., Marc Y. i wsp. Orally active aminopeptidase a inhibitors reduce blood pressure a new strategy for treating hypertension. *Hypertension* 2008; 51: 1318–1325.
 74. Wang H., Hou H.M. Improvement of transdermal permeation of captopril by iontophoresis. *Acta Pharmacol. Sin.* 2000; 21 (7): 591–595.
 75. Edwards B.S., Zimmerman R.S., Schwab T.R., Heublein D.M., Burnett J.C. Jr. Atrial stretch, not pressure, is the principal determinant controlling the acute release of atrial natriuretic factor. *Circ. Res.* 1988; 62: 191–195.
 76. Lang R.E., Tholken H., Ganten D., Luft F.C., Ruskoaho H., Unger T. Atrial natriuretic factor — a circulating hormone stimulated by volume loading. *Nature* 1985; 314: 264–266.
 77. Levin E.R., Gardner D.G., Samson W.K. Natriuretic peptides. *N. Engl. J. Med.* 1998; 339: 321–328.
 78. Ruskoaho H. Atrial natriuretic peptide: synthesis, release, and metabolism. *Pharmacol. Rev.* 1992; 44: 479–602.
 79. Janssen W.M., de Zeeuw D., van der Hem G.K., de Jong P.E. Antihypertensive effect of a 5-day infusion of atrial natriuretic factor in humans. *Hypertension* 1989; 13: 640–646.

80. Burnett J.C. Jr, Kao P.C., Hu D.C. i wsp. Atrial natriuretic peptide elevation in congestive heart failure in the human. *Science* 1986; 231: 1145–1147.
81. Erdos E.G., Skidgel R.A. Neutral endopeptidase 24.11 (enkephalinase) and related regulators of peptide hormones. *FASEB J.* 1989; 3: 145–151.
82. Stephenson S.L., Kenny A.J. The hydrolysis of alpha-human atrial natriuretic peptide by pig kidney microvillar membranes is initiated by endopeptidase-24.11. *Biochem. J.* 1987; 243: 183–187.
83. Lang C.C., Motwani J.G., Coutie W.J., Struthers A.D. Clearance of brain natriuretic peptide in patients with chronic heart failure: indirect evidence for a neutral endopeptidase mechanism but against an atrial natriuretic peptide clearance receptor mechanism. *Clin. Sci.* 1992; 82: 619–623.
84. Kenny A.J., Bourne A., Ingram J. Hydrolysis of human and pig brain natriuretic peptides, urodilatin, C-type natriuretic peptide and some C-receptor ligands by endopeptidase-24.11. *Biochem. J.* 1993; 291: 83–88.
85. Skidgel R.A., Engelbrecht S., Johnson A.R., Erdos E.G. Hydrolysis of substance p and neurotensin by converting enzyme and neutral endopeptidase. *Peptides* 1984; 5: 769–776.
86. Ferro C.J., Spratt J.C., Haynes W.G., Webb D.J. Inhibition of neutral endopeptidase causes vasoconstriction of human resistance vessels *in vivo*. *Circulation* 1998; 97: 2323–2330.
87. Bevan E.G., Connell J.M., Doyle J. i wsp. Candoxatril, a neutral endopeptidase inhibitor: efficacy and tolerability in essential hypertension. *J. Hypertens.* 1992; 10: 607–613.
88. Ando S., Rahman M.A., Butler G.C., Senn B.L., Floras J.S. Comparison of candoxatril and atrial natriuretic factor in healthy men. Effects on hemodynamics, sympathetic activity, heart rate variability, and endothelin. *Hypertension* 1995; 26: 1160–1166.
89. Worthley M.I., Corti R., Worthley S.G. Vasopeptidase inhibitors: will they have a role in clinical practice? *Br. J. Clin. Pharmacol.* 2004; 57: 27–36.
90. Kirkby N.S., Hadoke P.W.F., Bagnall A.J., Webb D.J. The endothelin system as a therapeutic target in cardiovascular disease: great expectations or bleak house? *Br. J. Pharmacol.* 2008; 153: 1105–1119.
91. Dhaun N., Pollock D.M., Goddard J., Webb D.J. Selective and mixed endothelin receptor antagonism in cardiovascular disease. *Trends Pharmacol. Sci.* 2007; 28: 573–579.
92. Feldstein C., Romero C. Role of endothelins in hypertension. *Amer. J. Therapeutics.* 2007; 14: 147–153.
93. Masaki T., Vane J.R., Vanhoutte P.M. International Union of Pharmacology nomenclature of endothelin receptors. *Pharmacol. Rev.* 1994; 46: 137–142.
94. Dasgupta F., Mukherjee A.K., Gangadhar N. Endothelin receptor antagonists — an overview. *Curr. Med. Chem.* 2002; 9: 549–575.
95. Saito Y., Nakao K., Mukoyama M. i wsp. Increased plasma endothelin level in patients with essential hypertension. *N. Engl. J. Med.* 1990; 322: 205.
96. Haak T., Jungmann E., Felber A. i wsp. Increased plasma levels of endothelin in diabetic patients with hypertension. *Am. J. Hypertens.* 1992; 5: 161–166.
97. Schneider J.G., Tilly N., Hierl T. i wsp. Elevated plasma endothelin-1 levels in diabetes mellitus. *Am. J. Hypertens.* 2002; 15: 967–972.
98. Clozel M., Breu V., Gray G.A. i wsp. Pharmacological characterization of bosentan, a new potent orally active nonpeptide endothelin receptor antagonist. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 1994; 270: 228–235.
99. Teerlink J.R., Löffler B.-M., Hess P., Maire J.-P., Clozel M., Clozel J.-P. Role of endothelin in the maintenance of blood pressure in conscious rats with chronic heart failure: acute effects of the endothelin receptor antagonist Ro 47-0203 (bosentan). *Circulation* 1994; 90: 2510–2518.
100. Krum H., Viskoper R.J., Lacourciere Y. i wsp. The effect of an endothelin-receptor antagonist, bosentan, on blood pressure in patients with essential hypertension. *Bosentan Hypertension Investigators. N. Engl. J. Med.* 1998; 338: 784–790.
101. Boussette N., Giaid A. Endothelin-1 in atherosclerosis and other vasculopathies. *Can. J. Physiol. Pharmacol.* 2003; 81: 578–587.
102. Raichlin E., Prasad A., Mathew V. i wsp. Efficacy and safety of atrasentan in patients with cardiovascular risk and early atherosclerosis. *Hypertension* 2008; 52: 522–528.
103. Nakov R., Pfarr E., Eberle S. Darusentan: an effective endothelin receptor antagonist for treatment of hypertension. *Am. J. Hypertens.* 2002; 15: 583–589.
104. Epstein B.J. Efficacy and safety of darusentan: a novel endothelin receptor antagonist. *Ann. Pharmacother.* 2008; 42 (7): 1060–1069.
105. Nakov R., Pfarr E., Eberle S., on behalf of the HEAT Investigators. Darusentan: an effective endothelin receptor antagonist for treatment of hypertension. *Am. J. Hypertens.* 2002; 15: 583–589.
106. Black H.R., Bakris G.L., Weber M.A. i wsp. Efficacy and safety of darusentan in patients with resistant hypertension: results from a randomized, double-blind, placebo-controlled dose-ranging study. *J. Clin. Hypertens.* 2007; 9: 760–769.
107. Weber M.A., Black H., Bakris G. i wsp. A selective endothelin-receptor antagonist to reduce blood pressure in patients with treatment-resistant hypertension: a randomised, double-blind, placebo-controlled trial. *Lancet* 2009; 374: 1423–1431.
108. Haynes W.G., Webb D.J. Contribution of endogenous generation of endothelin-1 to basal vascular tone. *Lancet* 1994; 344: 852–854.
109. Haynes W.G., Ferro C.E., O’Kane K. i wsp. Systemic endothelin receptor blockade decreases peripheral vascular resistance and blood pressure in man. *Circulation* 1996; 93: 1860–1870.
110. Benigni A., Remuzzi G. Endothelin antagonists. *Lancet* 1999; 353: 133–138.
111. Goddard J., Johnston N.R., Hand M.F. i wsp. Endothelin-A receptor antagonism reduces blood pressure and increases renal blood flow in hypertensive patients with chronic renal failure a comparison of selective and combined endothelin receptor blockade. *Circulation* 2004; 109: 1186–1193.
112. Cheng X., Massa M.A., Patt W.C. International Patent Number, US 5891892 (1999).
113. Ahn K., Cheng X., Doherty A.M. i wsp. International Patent Number, WO 9619474 (1996).
114. Touyz R.M. Reactive oxygen species, vascular oxidative stress, and redox signaling in hypertension: what is the clinical significance? *Hypertension* 2004; 44: 248–252.
115. Jacobson G.M., Dourron H.M., Liu J. i wsp. Novel NAD(P)H oxidase inhibitor suppresses angioplasty-induced superoxide and neointimal hyperplasia of rat carotid artery. *Circ. Res.* 2003; 92: 637–643.
116. Cai H., Griendling K.K., Harrison D.G. The vascular NAD(P)H oxidases as therapeutic targets in cardiovascular diseases. *Trends Pharmacol. Sci.* 2003; 24: 471–478.
117. Little W.C., Zile M.R., Kitzman D.W. i wsp. The effect of alagebrium chloride (ALT-711), a novel glucose cross-link

- breaker, in the treatment of elderly patients with diastolic heart failure. *J. Card. Fail.* 2005; 11: 191–195.
118. Bakris G.L., Bank A.J., Kass D.A. i wsp. Advanced glycation end-product cross-link breakers. A novel approach to cardiovascular pathologies related to the aging process. *Am. J. Hypertens.* 2004; 17: S23–30.
119. Reddy V., Beyaz A. Inhibitors of the Maillard reaction and AGE breakers as therapeutics for multiple diseases. *Drug Discov. Today* 2006; 11: 646–654.
120. Susic D., Varagic J., Ahn J., Frohlich E.D. Crosslink breakers: a new approach to cardiovascular therapy. *Curr. Opin. Cardiol.* 2004; 19: 336–340.
121. Asif M., Egan J., Vasani S. i wsp. An advanced glycation endproduct cross-link breaker can reverse age-related increases in myocardial stiffness. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 2000; 97: 2809–2813.
122. Kass D.A., Shapiro E.P., Kawaguchi M. i wsp. Improved arterial compliance by a novel advanced glycation end-product crosslink breaker. *Circulation* 2001; 104: 1464–1470.
123. Somlyo A.P., Somlyo A.V. Ca²⁺ sensitivity of smooth muscle and nonmuscle myosin II: modulated by G proteins, kinases, and myosin phosphatase. *Physiol. Rev.* 2003; 83: 1325–1358.
124. Lee D.L., Webb R.C., Jin L. Hypertension and RhoA/Rho-kinase signaling in the vasculature: highlights from the recent literature. *Hypertension* 2004; 44: 796–799.
125. Shimokawa H. Rho-kinase as a novel therapeutic target in treatment of cardiovascular diseases. *J. Cardiovasc. Pharmacol.* 2002; 39: 319–327.
126. Hirooka Y., Shimokawa H., Takeshita A. Rho-kinase, a potential therapeutic target for the treatment of hypertension. *Drug News Perspect.* 2004; 17: 523–527.
127. Masumoto A., Hirooka Y., Shimokawa H. i wsp. Possible involvement of Rho-kinase in the pathogenesis of hypertension in humans. *Hypertension* 2001; 38: 1307–1310.
128. Neshher M., Shpolansky U., Rosen H. i wsp. The digitalis-like steroid hormones: new mechanisms of action and biological significance. *Life Sci.* 2007; 80: 2093–2107.
129. Haddy F.J. Role of dietary salt in hypertension. *Life Sci.* 2006; 79: 1585–1592.
130. Ferrandi M., Tripodi G., Salardi S. i wsp. Renal Na⁺/K⁺-ATPase in genetic hypertension. *Hypertension* 1996; 28: 1018–1025.
131. Dmitrieva R.I., Bagrov A.Y., Lalli E. i wsp. Mammalian bufadienolide is synthesized from cholesterol in the adrenal cortex by a pathway that is independent of cholesterol side-chain cleavage. *Hypertension* 2000; 36: 442–448.
132. Ferrari P., Ferrandi M., Valentin G. i wsp. Rostafuroxin: an ouabain antagonist that corrects renal and vascular Na⁺/K⁺-ATPase alterations in ouabain and adducin-dependent hypertension. *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.* 2006; 290: R529–R535.
133. Danckwyl S., Sukhanov S., Horvat D. i wsp. Effects of resibufogenin in experimental hypertension. *Am. J. Nephrol.* 2008; 28: 8–13.
134. Tiekou S., Hooper N.M. Inhibition of aminopeptidases N, A and W: a re-evaluation of the actions of bestatin and inhibitors of angiotensin converting enzyme. *Biochem. Pharmacol.* 1992; 44: 1725–1730.
135. Gaudet E., Blanc J., Elghozi J.L. Role of angiotensin II and catecholamines in blood pressure variability responses to stress in SHR. *Am. J. Physiol.* 1996; 270: R1265–R1272.
136. Vazeux G., Wang J., Corvol P., Llorens-Cortes C. Identification of glutamate residues essential for catalytic activity and zinc coordination in aminopeptidase A. *J. Biol. Chem.* 1996; 271: 9069–9074.
137. Rozenfeld R., Iturrioz X., Maigret B., Llorens-Cortes C. Contribution of molecular modeling and site-directed mutagenesis to the identification of two structural residues, Arg-220 and Asp-227, in aminopeptidase A. *J. Biol. Chem.* 2002; 277: 29242–29252.
138. Owen H.G., Brecher M.E. Atypical reactions associated with use of angiotensin-converting enzyme inhibitors and apheresis. *Transfusion* 1994; 34: 891–894.
139. Douglas S.A., Dhanak D., Johns D.G. From «gills to pills»: urotensin-II as a regulator of mammalian cardiorenal function. *Trends Pharmacol. Sci.* 2004; 25: 76–85.
140. Douglas S.A. In *The IUPHAR compendium of receptor characterization and classification*. Girdlestone D. (red.). IUPHAR Media, London 2000; 365–372.
141. Elshourbagy N.A., Douglas S.A., Shabon U. i wsp. Molecular and pharmacological characterization of genes encoding urotensin-II peptides and their cognate G-protein-coupled receptors from the mouse and monkey. *Br. J. Pharmacol.* 2002; 136: 9–22.
142. Ames R.S., Sarau H.M., Chambers J.K. i wsp. Human urotensin-II is a potent vasoconstrictor and agonist for the orphan receptor GPR14. *Nature* 1999; 401: 282–286.
143. Maguire J.J., Kuc R.E., Davenport A.P. Orphan-receptor ligand human urotensin II: receptor localization in human tissues and comparison of vasoconstrictor responses with endothelin-1. *Br. J. Pharmacol.* 2000; 131: 441–446.
144. Camarda V., Rizzi A., Calo G. i wsp. Effects of human urotensin II in isolated vessels of various species; comparison with other vasoactive agents. *Naunyn-Schmiedeberg Arch. Pharmacol.* 2002; 365: 141–149.
145. Bottrill F.E., Douglas S.A., Hiley C.R., White R. Human urotensin-II is an endothelium-dependent vasodilator in rat small arteries. *Br. J. Pharmacol.* 2000; 130: 1865–1870.
146. Stirrat A., Gallagher M., Douglas S.A. Potent vasodilator responses to human urotensin-II in human pulmonary and abdominal resistance arteries. *Am. J. Physiol.* 2001; 280: H925–H928.
147. Carotenuto A., Grieco P., Rovero P., Novellino E. Urotensin-II receptor antagonists. *Curr. Med. Chem.* 2006; 13: 267–275.
148. Flohr S., Kurz M., Kostenis E., Brkovich A., Fournier A., Klabunde T. Identification of nonpeptidic urotensin II receptor antagonists by virtual screening based on a pharmacophore model derived from structure-activity relationships and nuclear magnetic resonance studies on urotensin II. *J. Med. Chem.* 2002; 45: 1799–1805.
149. Clozel M., Binkert C., Birker-Robaczewska M. i wsp. Pharmacology of the urotensin-II receptor antagonist palosuran (ACT-058362; 1-2-(4-benzyl-4-hydroxy-piperidin-1-yl)-ethyl]-3-(2-methyl-quinolin-4-yl)-urea sulfate salt): first demonstration of a pathophysiological role of the urotensin system. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 2004; 311: 204–212.
150. Aiassaoui H., Binkert C., Clozel M. i wsp. International Patent Number, WO 02/76979 (2002).
151. Aiassaoui H., Binkert C., Clozel M. i wsp. International Patent Number, WO 03/48154-A1 (2003).
152. Aiassaoui H., Binkert C., Clozel M. i wsp. International Patent Number, WO 04/99180-A1 (2004).
153. Aiassaoui H., Binkert C., Mathys B. i wsp. International Patent Number, WO 04/26836-A2 (2004).
154. Sidharta P.N., Wagner F.D., Bohnemeier H. i wsp. Pharmacodynamics and pharmacokinetics of the urotensin II re-

ceptor antagonist palosuran in macroalbuminuric, diabetic patients. *Clin. Pharmacol. Ther.* 2006; 80: 246–256.

155. Harrap S.B., Van der Merwe W.M., Griffin S.A. i wsp. Brief angiotensin converting enzyme inhibitor treatment in young spontaneously hypertensive rats reduces blood pressure long term. *Hypertension* 1990; 16: 603–614.

156. Brown M.J., Coltart J., Gunewardena K. i wsp. Randomized double-blind placebo-controlled study of an angiotensin immunotherapeutic vaccine (PMD3117) in hypertensive subjects. *Clin. Sci. (Lond.)* 2004; 107: 167–173.

157. Tissot A.C., Maurer P., Nussberger J. i wsp. Effect of immunisation against angiotensin II with CYT006-AngQb on

ambulatory blood pressure: a double-blind, randomised, placebo-controlled phase IIa study. *Lancet* 2008; 371: 821–827.

158. Brown M.J. Aliskiren. *Circulation* 2008; 118: 773–784.

159. Brown M.J. Renin: friend or foe? *Heart* 2007; 93: 1026–1033.

160. Ambuhl P.M., Tissot A.C., Fulurija A. i wsp. A vaccine for hypertension based on virus-like particles: preclinical efficacy and phase I safety and immunogenicity. *J. Hypertens.* 2007; 25: 63–72.

161. Gardiner S.M., Auton T.R., Downham M.R. i wsp. Active immunization with angiotensin I peptide analogue vaccines selectively reduces the pressor effects of exogenous angiotensin I in conscious rats. *Br. J. Pharmacol.* 2000; 129: 1178–1182.