

Т. В. Новохацька

## Новітні підходи до фармакотерапії судинної дисфункції при артеріальній гіпертонії

Державна установа «Інститут фармакології та токсикології  
Національної академії медичних наук України», м. Київ

*Ключові слова:* судинна дисфункція, артеріальна гіпертонія, РНК-інтерференція, фармакогеноміка, фармакотерапія

Часто артеріальна гіпертонія (АГ) проходить безсимптомно, тому багато людей навіть не здогадуються про свій діагноз протягом років. Саме з цієї причини її й називають «мовчазним убивцею», оскільки підвищує ризик коронарного серцевого захворювання та серцевого приступу.

Основною метою публікації є висвітлення уже відомих і частково висвітлених даних зі застосування переваг фармакогеноміки в лікуванні судинних порушень при АГ.

Вікові зміни пов'язані зі зменшенням еластичності судин, утворенням атеросклеротичних бляшок. Гіпертензія також є наслідком ожиріння, що ускладнює роботу серцевого м'яза. Серед факторів ризику виникнення гіпертензії є паління, хронічний алкоголізм, надмірне споживання солі та умови високого стресу. Останні дані свідчать, що брак вітаміну D підвищує ймовірність ризику АГ [1–3]. Діабет є ще одним фактором ризику, 60 % хворих на діабет страждають від високого тиску.

Вивченню питань патогенезу, клініки й лікування гіпертонічної хвороби приділяється велика увага. Ефективна антигіпертензивна терапія є одним з найважливіших чинників зниження серцево-судинного ризику, у тому числі розвитку інсульту, інфаркту міокарда та смертності

від серцево-судинних дисфункцій. До антигіпертензивних засобів першої лінії відносять 5 груп препаратів: інгібітори ангіотензин-перетворюючого ферменту (АПФ), бета-адреноблокатори, блокатори рецепторів ангіотензину II, діуретики й антагоністи іонів кальцію [4].

Одним з напрямів подолання артеріальної гіпертонії є дослідження та вивчення спектральних характеристик серцевих ритмів у пацієнтів з метою підбору медикаментів від гіпертензії та контролю ефективності лікування. Спектрограми дають таку можливість.

Відомо, що нервові волокна навколо нирок відіграють головну роль у регуляції кров'яного тиску. Одним з новітніх методів є «ниркова денервація» (renal denervation). Це досягається шляхом регулювання кров'яного потоку в нирки, а також за рахунок контролю проникнення в нирку відповідних хімічних сполук [5]. Після руйнування нервових волокон кров'яний тиск відновлюється до норми. Ця процедура не впливає на кров'яний потік через ниркові артерії, проте метод є не досить вивченим, тому лікарі не радять використання його для довготривалого лікування [5].

АГ вважають багатофакторною хронічною хворобою мультигенетичного походження. Одним зі способів вирішення даної проблеми є виявлення та вплив на відповідні конкретні фармакологічні цілі в судинній стінці під час розвитку гіпертензії [6]. Сьогодні контроль гіпертонії та сер-

цево-судинних порушень все ще є недостатнім. Таким чином, пошук нових засобів зниження артеріального тиску залишається вартим подальшої клінічної та дослідницької уваги.

### **Фармакогеноміка – сучасний напрям пошуку ліків**

Фармакогеноміка – вчення про те, як гени впливають на відповідь індивідуального організму на ліки [7]. Це відносно новий напрям науки, що включає як традиційну фармакологію (науку про ліки), так і геноміку (науку про гени та їхні функції) для розробки ефективних, безпечних медикаментів і доз, які були б прив'язані саме до індивідуального геному пацієнта.

Велика кількість ліків наразі має суттєвий недолік – одні для всіх, проте впливають на кожен окремий організм по-різному. Важко передбачити, хто з пацієнтів матиме хороший результат, на кого ліки взагалі не матимуть жодного впливу, а кому принесуть лише шкідливі побічні ефекти, що іноді призводять навіть до летальних випадків.

Головними перевагами фармакогеноміки є:

- створення більш ефективних і менш шкідливих специфічних препаратів на основі протеїнів, ензимів і молекул РНК, асоційованих із генами та хворобами;
- збільшення ефективності та швидкості підбору лікування пацієнта з самого початку (без підбору наосліп), проаналізувавши геном хворого, уникаючи помилкових рецептів, тим самим зменшуючи смертність;
- заміна дозування за віком і вагою на дозування згідно з індивідуальним набором генів, що беруть участь у метаболізмі, уникаючи передозування;

- створення нового розпорядку дня, зміна середовища на ранніх стадіях з метою зменшення ймовірності виникнення/розвитку генетичних хвороб;
- створення вакцин на основі ДНК або РНК, що активують імунну систему та не здатні спричинити інфікування організму, а також є недорогими, стабільними, легкими для зберігання та дають можливість вакцинації відразу від декількох патогенних штамів [7];
- поділ препаратів на групи відповідно до пацієнтів, на яких вони мають вплив, навіть тих, що раніше були відбраковані через неефективність.

Сьогодні сфера фармакогеноміки знаходиться на початковому рівні. Її використання є досить обмеженим, проте нові напрями знаходяться на стадії вивчення шляхом клінічних досліджень. Не дивлячись на фінансові проблеми та складність з вивченням геному, у майбутньому фармакогеноміка сприятиме розробці спеціалізованих препаратів для лікування великої кількості захворювань, включно з серцево-судинними хворобами, раком, ВІЛ/СНІД, астмою та хворобою Альцгеймера, а також і вакцин [7, 8].

Роль протеїнкінази С (ПКС) у розвитку судинних патологій неможливо недооцінити, оскільки вона має надзвичайно широкий спектр регуляторної дії на тонус судинної стінки, що повною мірою проявляється за умов розвитку гіпертензивних станів різного генезу, де вона залучена до формування гіпертонусу гладеньком'язових клітин (ГМК). Проте досі невідомо, яка саме субодиноця ПКС задіяна більшою мірою в патогенезі АГ. Помічено, що підвищена експресія δ-ізоформи ПКС спостерігається за різних патологічних станів,

проте бракує даних щодо механізмів дії та застосування блокаторів та інгібіторів ізоформ ПКС за умов АГ.

Таким чином, аналіз даних сучасної літератури виявив, що як ПКС, так і канали ефекторних елементів судинної стінки відіграють дуже важливу роль регуляції судинного тонуусу, а порушення їхньої функціональної активності спостерігається за багатьох патологічних станів і дисфункцій, зокрема при гіперскоротливості судин і при діабеті [9–12]. Цей факт вимагає формування чітких уявлень щодо ролі ПКС у регуляції судинного тонуусу та дослідження цього питання залишається актуальним як для фізіологів та патофізіологів, так і для практичної медицини, оскільки дає можливість розробки принципово нових шляхів фармакологічної корекції гіпертензивних станів.

Фармакотерапія АГ, схоже, досягла своїх економічних меж, а оскільки альтернативні терапевтичні стратегії, такі як терапія на основі електронних пристроїв і вакцинація, не виправдали бажаних очікувань, генну терапію можна розглядати як найкращу альтернативу.

### **Перспективи використання плазмідного вектора з геном міРНК для фармакогенетичних маніпуляцій**

Уперше в 1973 році було опубліковано С. Коеном і Г. Боєром роботу, де висвітлено ДНК клонування за допомогою плазмідного вектора [13]. Плазмідні вектори використовують для багатьох різноманітних способів маніпуляції з генами: копіювання конкретного гена; як недорогий та легкий спосіб копіювання гена, що кодує конкретний білок, необхідний організму; для створення множинних копій антитіл чи будь-якого іншого білка, що кодує ДНК. Множинні

копії таких білків, як інсулін, легко продукуються для людини, що має в ньому потребу, наприклад, у разі діабету 1-го типу. Плазмідні вектори можуть бути використані для копіювання та примноження будь-якої генетичної послідовності, що може бути досить корисне в медицині для підтримки рівня певного протеїну в організмі. Також вони можуть бути використані для створення бібліотек кДНК [14, 15].

Реалізацію вищевказаних ДНК маніпуляцій з використанням плазмідного вектора слід розпочати з «розрізання» плазміди високо-специфічними ендонуклеазами або рестрикційними ензимами. У випадку найпоширенішого мікроорганізму для генетичних маніпуляцій *E. coli* використовують рестриктази, специфічні до сайту *EcoRI*. У *EcoRI* ДНК *E. coli* «розрізається» в сайті рестрикції з нуклеотидною послідовністю GAATTC, утворюючи одноланцюгові «хвости» на кожному з отриманих кінців, так звані «липкі кінці», що дає змогу зв'язування з новими фрагментами ДНК. Нові фрагменти ДНК (з іншої молекули ДНК) також «розрізані» у сайті *EcoRI* таким чином, що вони мають комплементарну до плазмідних «липких кінців» послідовність нуклеотидів на своїх кінцях. Далі отримані фрагменти ДНК і «розрізана» плазміда поєднуються між собою за допомогою ДНК лігази за участю АТФ, принцип дії якої полягає в ковалентному з'єднанні «липких кінців» кожної молекули в напрямку від 3'- до 5'-кінця [14]. Таким чином отримуємо готову нову (рекомбінантну) плазмиду, що містить частину чужої ДНК. Оскільки плазміди є системами, що здатні до самореплікації, то після потрапляння до клітини-господаря рекомбінантні плазміди проходять багаторазову реплі-

кацію, створюючи велику кількість нових клітин з рекомбінантною ДНК (трансформація) [16, 17].

Існують плазміди, що не здатні приймати чужу ДНК, інші можуть приймати більше, ніж потрібно, а деякі утворюють конкатемери (множинні ДНК повтори). Щоб уникнути вищеперерахованих небажаних явищ, використовують селективне середовище за культивування трансфектованих клітин-господарів. Наприклад, для *E. coli* ампіцилін-стійкий ген (*amp<sup>r</sup>*) кодує β-лактамазу, яка інактивує ампіцилін. Клітини, що пройшли успішну трансфекцію й містять у собі нову плазмиду, можна легко відібрати з поміж усіх, вирощуючи їх на середовищі з ампіциліном. Також існують методи, що допомагають виявити колонії *E. coli*, які містять плазмиду з фрагментом нової ДНК, а які ні, шляхом зміни забарвлення колоній у різні кольори. Після створення нової плазмиди гібрид можна трансферувати з *E. coli* до інших мікроорганізмів, клітин або організмів, де відбуватиметься експресія бажаного нового фрагмента ДНК або малі інтерферуючі РНК, що були «вбудовані» у плазмідний вектор [15, 17].

Найбільшим недоліком міРНК є їхня вразливість після потрапляння в кров'яне русло. Для більшої стабільності нуклеїнової кислоти доцільно застосовувати так званий захист, що зменшує доступність нуклеаз до міРНК. Таким чином міРНК у формі шпильки було вбудовано у векторний носій генетичної інформації – плазмиду (рис. 1). Методами клонування будь-які фрагменти ДНК (або дволанцюгові РНК), отримані за допомогою рестриктаз, можна вбудувати в плазмиду або ДНК бактеріофага – вектор для молекулярного клонування, а потім розмножити ці генетичні елементи в клітинах бактерій або дріжджів, збільшуючи їхню кількість у мільйони разів. Як вектор для клонування часто використовують бактеріальні плазміди [18]. На відміну від вірусних векторних систем, що мають вищий рівень експресії генетичної інформації, векторні системи на основі плазмід є більш доцільними для використання *in vivo*, оскільки вони не є токсичними й не мають онтогенетичного потенціалу на відміну від попередніх.

Після клонування потрібна концентрація може бути доставлена безпосередньо в організм, де викличе

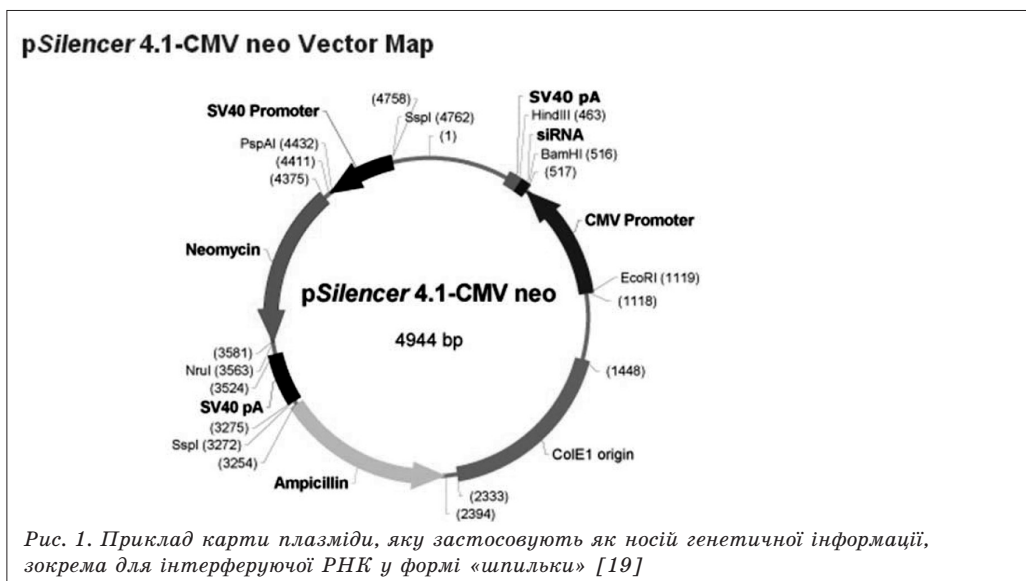


Рис. 1. Приклад карти плазмиди, яку застосовують як носій генетичної інформації, зокрема для інтерферуючої РНК у формі «шпильки» [19]

---

---

посттрансляційний сайленсинг або нокаут гена-мішені.

Перевагою застосування міРНК на основі вектора є можливість відбору трансфектованих клітин за допомогою ділянки на плазміді, яка кодує селективний ген (наприклад, ген стійкості до антибіотика).

РНК-інтерференція є яскравим прикладом використання природного процесу як інструмента для дослідження. Даний метод може бути використаний як інструмент для скринінгу, а також як новітній терапевтичний засіб.

Існують експериментальні докази доцільності застосування антигіпертензивної терапії, включаючи надмірну експресію генів або ж її пригнічення. Сьогодні аденоасоційований вірус, лентивірус або аденовіруси, як видається, є найперспективнішими переносниками. Однак подальше вдосконалення будови векторів необхідне для забезпечення достатньої ефективності трансфекції для лікування гіпертонії в клінічних умовах.

### **Малі інтерферуючі РНК як високоспецифічний інструмент для функціональної геноміки та генної терапії**

З відкриттям явища РНК-інтерференції в науковців значно розширився арсенал методів дослідження функціональної ролі різноманітних білкових структур, розкриття клітинних регуляторних механізмів, вивчення функціональної геноміки еукаріот. Технологія РНК-інтерференції – один з найсучасніших високоспецифічних методів цільової генотерапії, суть якої полягає в пригніченні експресії певного гена на стадії трансляції чи порушення його транскрипції (пост-транскрипційний сайленсинг) [20]. Реалізація цього процесу

може відбуватись за допомогою декількох інструментів, таких як дволанцюгові РНК або дволанцюгові олігонуклеотиди, малі інтерферуючі РНК (міРНК), міРНК, які вбудовані в плазмідний або ретровірусний векторний носій [16]. Проте більшість з вищеперерахованих методів має свої недоліки. За допомогою векторних носіїв для генетичного матеріалу, зокрема дволанцюгових міРНК, було подолано проблему низьких показників ефективності трансфекції. Проте ретровірусні вектори мають декілька обмежень, а саме: активний клітинний поділ для генетичної трансдукції та онтогенетичний потенціал, хоча на прикладі комерційного вектора для доставки міРНК у клітини ссавців на базі аденоасоційованого вірусу (AAV) було продемонстровано можливість ефективної доставки міРНК і зниження експресії генів-мішеней цього модифікованого вектора в клітини лінії HeLa S3, що проходять і не проходять поділ.

Так само основними недоліками РНК-інтерференції, зумовленої олігонуклеотидами, є як висока вартість, так і неспецифічна токсичність під час трансфекції та короткотривале пригнічення експресії гена-мішені. Подоланням цієї проблеми стали альтернативні для експресування міРНК у клітинах ссавців – ДНК вектори [19]. Загалом ДНК вектори використовують промотор РНК полімерази III (Pol III) для експресії, короткі дволанцюгові РНК у вигляді інвертованих повторів послідовностей, що містять, так звану, «шпильку» (рис. 2). Було показано, що малі РНК, які містять «шпильку», перетворюються в міРНК та ефективно проникають всередину клітини, де зумовлюють специфічний генний сайленсинг [21, 22]. Хоча проблема низької ефективності пригнічення експресії гена була подола-



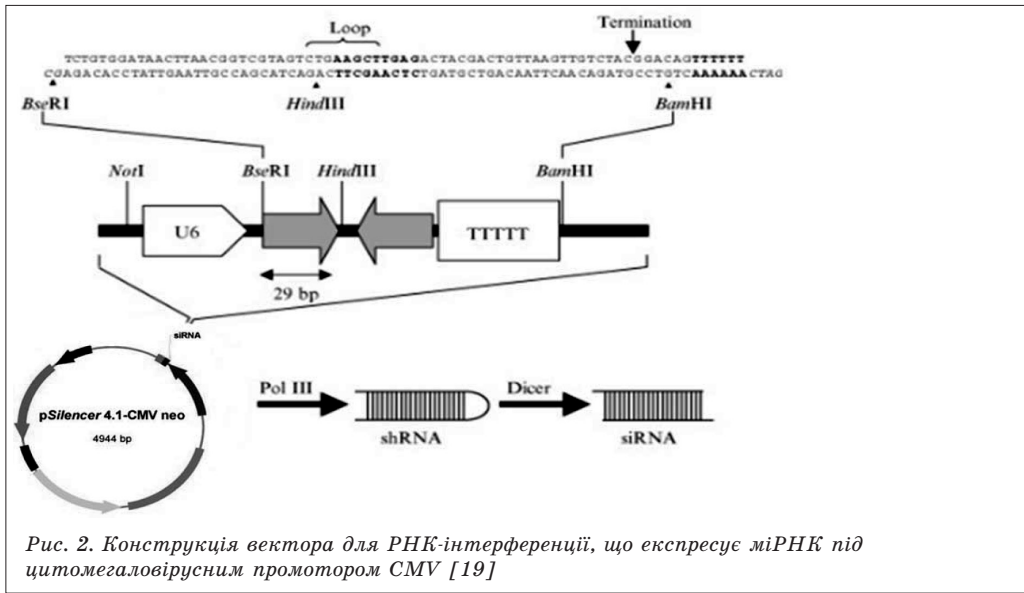


Рис. 2. Конструкція вектора для РНК-інтерференції, що експресує міРНК під цитомегаловірусним промотором CMV [19]

на, проте вектори на основі ретровірусів мають обмеження, властиве онкоретровірусним векторам – неможливість проникнення в клітину, що не відбувається на стадії поділу, тому навіть сьогодні векторні системи для доставки генетичної інформації знаходяться на стадії розробки.

Одиними з перших інструментів для здійснення РНК-інтерференції були міРНК, які є важливою ланкою «внутрішньоклітинного імунітету» – вони протистоять вірусним РНК і транспозонам (за вроджених імунологічних реакцій), відіграють суттєву роль у регуляції розвитку організму та підтриманні цілісності геному. З їхнім відкриттям з'явилися нові надії та сподівання на підвищення ефективності терапії багатьох захворювань. Натепер відома структура генів (відповідно й мРНК) багатьох молекул, які беруть участь у ряді патологій чи запускають їхній розвиток. Заблокувавши мРНК цих молекул-мішеней за допомогою РНК-інтерференції можна досягти хоча б ослаблення прогресії захворювання. Останніми роками ведуться активні дослідження препаратів на основі міРНК проти ВІЛ,

раку підшлункової залози, макулярної дистрофії тощо [20, 23–25]. І хоча вони навряд чи стануть панацеєю, однак створення ефективного лікарського засобу буде досить важливим кроком на шляху розробки методів генної терапії.

Головною перепоною в разі створення ліків на основі міРНК є проблеми з їхньою адресною доставкою в необхідні клітини організму. Одним з перспективних методів її вирішення є використання різних транспортних нанокомплексів (у тому числі ліпосом) [20, 25]. Чи не найважливішим використанням властивостей РНК-інтерференції є функціональна геноміка.

Важливим завданням, яке постало перед людством у зв'язку з описанням геномів багатьох організмів, є з'ясування ролі кожного гена й відповідно різноманітних білкових молекул у нормі та за умов патології [26]. Вирішення даної проблеми можливе через «блокування» генів, і якщо раніше на пошук його вдалого способу (за допомогою антисмислових олігонуклеотидів, хімічних інгібіторів, шляхом внесення необхідної

мутації в зиготу) та реалізацію було необхідно від декількох місяців до року, то за допомогою технології РНК-інтерференції практично з будь-яким геном будь-якого організму (послідовність нуклеотидів якого відома) цю процедуру можна здійснити протягом 1–2 тижнів зі значним підвищенням специфічності блокування [27]. Це можливо завдяки тому, що дволанцюгові інтерферуючі РНК довжиною 21–23 пар нуклеотидів, які, маючи комплементарну послідовність до молекули-мішені мРНК, швидко потрапляють до клітини, де активують білкові системи клітини (Dicer, RISC), які забезпечують селективну деградацію залученого гена [23].

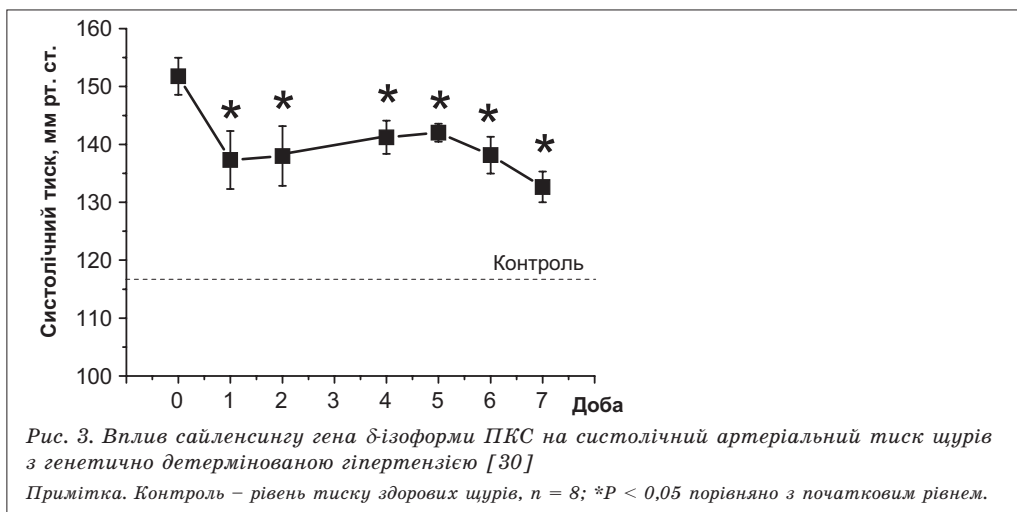
Технологія міРНК є корисним засобом пригнічення експресії генів у клітинах ссавців. Досягнення в цій галузі включає підвищену увагу до характеристики цільових і нецільових ефектів зі застосуванням відповідних засобів контролю за експресією генів. Це дозволить розширити можливості вимірювання одиничних і множинних комбінацій мішеней, а також здійснити комплексні зусилля для розуміння процесів у клітинах ссавців.

### **Доцільність використання модуляторів протеїнкінази С як фармакотерапевтичних агентів для нормалізації судинного тону**

Відомо близько 63 мішеней для впливу генотерапії, що беруть участь у розвитку судинних дисфункцій за гіпертензії. Для сайленсингу фармакологічно встановлені мішені, такі як рецептор ангіотензину II AT1, ангіотензинперетворюючий фермент,  $\beta$ 1-адренергічний рецептор, рецептор мінералокортикоїдів, ендотелін-1, а також експериментальні мішені, такі як ангіотензиноген, (про)реніновий рецептор, цитохром P-450 гідроксила-

за 4A, с-Jun, с-Myc, фактор росту, отриманий з тромбоцитів, та інтерлейкін-6. Інші можливі цілі, які можуть бути застосовані в майбутніх дослідженнях варіантів генної терапії гіпертонії, включають альдостеронсинтазу, нейтральну ендопептидазу, ренін, ендотелін-конвертуючий фермент, фосфодіестерази, розчинну гуанілатциклазу або рецептор Mas [28].

Проте зовсім мало уваги дослідниками приділено протеїнкіназі С та її субодиницям. Результати чисельних досліджень свідчать про те, що роль ПКС є однією з ключових у регуляції міогенного тону стінки кровоносних судин як за нормальних фізіологічних умов, так і, особливо, за умов розвитку гіпертензивних станів різного генезу. Відомо, що блокування  $\delta$ -ізоформи ПКС за допомогою як міРНК, так і міРНК на основі плазмідного вектора призводить до значного зниження артеріального тиску вже після першого введення та триває протягом тижня (рис. 3) [29]. Поряд з іншими шляхами регуляції тону судинних гладеньком'язових клітин (ГМК) за участю регуляторних протеїнкіназ, ПКС-опосередкований шлях альтерації  $\text{Ca}^{2+}$ -чутливості скоротливого апарату ГМК, а також вплив ПКС на активність іонних каналів сарколеми й ендотеліальної залежну регуляцію судинного тону залучені до формування багатьох патологій серцево-судинної системи [30–32]. Роль ПКС у розвитку судинних патологій неможливо недооцінити, що є надзвичайно важливим як для фундаментальної фізіології, так і для розробки нових підходів до фармакотерапії гіпертензивних станів. Дотепер серед фармакологічних засобів лікування артеріальної гіпертензії не існує препаратів, дія яких спрямована на пригнічення ПКС у судинній стінці. Дослідження в цьому



напрямі можуть призвести до створення нових класів фармакологічних засобів, зокрема,  $\text{Ca}^{2+}$ -сенситизаторів, які можуть стати ідеальними кардіотоніками,  $\text{Ca}^{2+}$ -десенситизаторів-вазотоніків, а також антигіпертензивних засобів з направленою дією.

Необхідно зауважити, що цей надзвичайно широкий спектр регуляторної дії ПКС на тонус судинної стінки повною мірою проявляється за умов розвитку гіпертензивних станів різного генезу, де вона залучена до формування гіпертонусу ГМК. Цей факт вимагає формування чітких уявлень про роль ПКС у регуляції судинного тонусу, й дослідження цього питання залишається актуальним як для фізіологів і патофізіологів, так і для практичної медицини, оскільки дає можливість розробки принципово нових шляхів фармакологічної корекції станів, викликаних гіпертензією. Вплив сайленсингу гена  $\delta$ -ізоформи ПКС на сис-

толічний артеріальний тиск щурів з генетично детермінованою гіпертензією надано на рисунку 3.

Результати досліджень деталізують відомі та розкривають нові механізми впливу  $\delta$ -ізоформи протеїнкінази С у розвиток каналопатії, гіперскоротливості судин, підвищення артеріального тиску, що дозволить розглядати даний фермент як потенційну мішень для фармакотерапії судинних дисфункцій [29].

Найважливіше, що інтегральний показник стану серцево-судинної системи – артеріальний тиск, значною мірою знизився в щурів зі спонтанною гіпертензією після блокування гена  $\delta$ -ізоформи ПКС шляхом РНК-інтерференції, що дає підстави вважати за доцільне використання методу блокування експресії генів протеїнкінази С на основі малих інтерферуючих РНК як інструменту для подолання судинних дисфункцій за АГ.

1. Investigating the association of vitamin D with blood pressure and the renin-angiotensin-aldosterone system in hypertensive subjects: a cross-sectional prospective study. A. Cremer, C. Tambosco, J. Corcuff et al. *J Hum Hypertens*. 2018. V. 32 (2). P. 114–121.
2. Intestinal flora modulates blood pressure by regulating the synthesis of intestinal-derived corticosterone in high salt-induced hypertension. X. Yan, J. Jin, X. Su et al. *Circ. Res*. 2020. V. 126 (7). P. 839–853.
3. Mills K. T., Stefanescu A., He J. The global epidemiology of hypertension. *Nat Rev Nephrol*. 2020. V. 16 (4). P. 223–237.
4. The bidirectional interaction between the sympathetic nervous system and immune mechanisms in the pathogenesis of hypertension. R. Carnagarin, V. Matthews, M. Zaldivia et al. *Br J Pharmacol*. 2019. V. 176 (12). P. 1839–1852.



5. Renal denervation for resistant hypertension. G. Coppolino, A. Pisano, L. Rivoli et al. *Cochrane Database Syst Rev*. 2017. V. 2 (2). CD011499.
6. *Xhignesse P., Krzesinski F., Krzesinski J. M.* Les crises hypertensives [Hypertensive crisis]. *Rev Med Liege*. 2018. V. 73 (5–6). P. 326–332.
7. *Tong A.W.* Small RNAs and non-small cell lung cancer. *Curr Mol Med*. 2006. V. 6 (3). P. 339–349.
8. *Lundstrom K.* Plasmid DNA-based alphavirus vaccines. *Vaccines (Basel)*. 2019. V. 7 (1). P. 29.
9. *Gupta S., Manchanda R.* A computational model of large conductance voltage and calcium activated potassium channels: implications for calcium dynamics and electrophysiology in detrusor smooth muscle cells. *J Comput Neurosci*. 2019. V. 46 (3). P. 233–256.
10. Inhibition of ZERO-BK by PKC is involved in carbachol-induced enhancement of rat colon smooth muscle motility. F. Xin, H. Huang, P. Liu et al. *Neurogastroenterol Motil*. 2018. V. 30 (7). P. e13312.
11. *Bukiya A. N., Dopico A. M.* Cholesterol antagonism of alcohol inhibition of smooth muscle BK channel requires cell integrity and involves a protein kinase C-dependent mechanism(s). *Biochim Biophys Acta Mol Cell Biol Lipids*. 2021. V. 1866 (4). P. 158874.
12. Elevated glucose levels promote contractile and cytoskeletal gene expression in vascular smooth muscle via Rho/Protein kinase C and actin polymerization. T. T. Hien, K. M. Turczyńska, D. Dahan et al. *J Biol Chem*. 2016. V. 291 (7). P. 3552–3568.
13. *Schindler D.* Genetic Engineering and Synthetic Genomics in Yeast to Understand Life and Boost Biotechnology. *Bioengineering (Basel)*. 2020. V. 7 (4). P. 137.
14. *Wu C., McCune T. S.* Implementation of research on potential drug target cloning and characterization in a biochemistry laboratory. *Biochem Mol Biol Educ*. 2020. V. 48 (2). P. 108–117.
15. Standardizing automated DNA assembly: best practices, metrics, and protocols using robots / D. I. Walsh 3rd, M. Pavan, L. Ortiz et al. *SLAS Technol*. 2019. V. 24 (3). P. 282–290.
16. *Chen W., Hu Y., Ju D.* Gene therapy for neurodegenerative disorders: advances, insights and prospects. *Acta Pharm Sin B*. 2020. V. 10 (8). P. 1347–1359.
17. Progress in delivery of siRNA-based therapeutics employing nano-vehicles for treatment of prostate cancer. M. Ashrafzadeh, K. Hushmandi, E. Rahmani Moghadam et al. *Bioengineering (Basel)*. 2020. V. 7 (3). P. 91.
18. A novel siRNA validation system for functional screening of effective RNAi targets in mammalian cells and development of a derivative lentivirus delivery system. G. Huang, Q. Gao, Y. Zhao et al. *Gene*. 2015. V. 558 (2). P. 278–286.
19. Short interfering RNA induced generation and translation of stable 5' mRNA cleavage intermediates. R. Singhania, S. Pavey, E. Payne et al. *Biochim Biophys Acta*. 2016. V. 1859 (8). P. 1034–1042.
20. RNA Therapeutics: How Far Have We Gone? M. F. Coutinho, L. Matos, J. Santos et al. *Adv Exp Med Biol*. 2019. V. 1157. P. 133–177.
21. *Kotowska-Zimmer A., Pewinska M., Olejniczak M.* Artificial miRNAs as therapeutic tools: Challenges and opportunities. *Wiley Interdiscip Rev RNA*. 2021. V. 12 (4). P. 1640.
22. *Herrera-Carrillo E., Harwig A., Berkhout B.* Silencing of HIV-1 by AgoshRNA molecules. *Gene Ther*. 2017. V. 24 (8). P.453–461.
23. *Ehl Th. R., Kurreck J.* RNA interference in pain research. *J. Neurochem*. 2006. V. 99. P. 371–380.
24. *Rupaimoole R., Slack F.* MicroRNA therapeutics: towards a new era for the management of cancer and other diseases. *Nat Rev Drug Discov*. 2017. V. 16 (3). P. 203–222.
25. An overview of microRNAs: Biology, functions, therapeutics, and analysis methods. K. Saliminejad, H. R. Khorram Khorshid, S. Soleymani Fard et al. *J Cell Physiol*. 2019. V. 234 (5). P. 5465.
26. *Saw P., Song E.* siRNA therapeutics: a clinical reality. *Sci China Life Sci*. 2020. V. 63 (4). P. 485–500.
27. *Nikam R., Gore K.* Journey of siRNA: Clinical Developments and Targeted Delivery. *Nucleic Acid Ther*. 2018. V. 28 (4). P. 209–224.
28. *Paulis L., Franke H., Simko F.* Gene therapy for hypertension. *Expert Opin Biol Ther*. 2017. V. 17 (11). P. 1345–1361.
29. Correction of vascular hypercontractility in spontaneously hypertensive rats using shRNAs-induced delta protein kinase C gene silencing. T. Novokhatska, S. Tishkin, V. Dosenko et al. *Eur J Pharmacol*. 2013. V. 718. P. 401–407.
30. Obligatory role for PKCδ in PIP2-mediated activation of store-operated TRPC1 channels in vascular smooth muscle cells. J. Shi, W. A. Large, A. P. Albert. *J Physiol*. 2020. V. 598 (18). P. 3911–3925.
31. *Soloviev A. I., Kizub I. V.* Mechanisms of vascular dysfunction evoked by ionizing radiation and possible targets for its pharmacological correction. *Biochem Pharmacol*. 2019. V. 159. P. 121–139.
32. Reactive Oxygen Species Mediate the Suppression of Arterial Smooth Muscle T-type Ca<sup>2+</sup> Channels by Angiotensin II. A. M. Hashad, M. Sancho, S. E. Brett, D. G. Welsh. *Sci Rep*. 2018. V. 22, 8 (1). P. 3445.

---

**Т. В. Новохацька**

## **Новітні підходи до фармакотерапії судинної дисфункції при артеріальній гіпертонії**

Артеріальна гіпертонія все ще залишається хворобою, що продовжує погіршувати якість життя населення в усьому світі та збільшує кількість смертельних випадків. Сьогодні існує велика кількість препаратів для лікування гіпертензивних станів, проте всі вони не мають 100 % ефективності, оскільки існує досить велика кількість мішеней, задіяних у виникненні патологій. Учені все ще залишаються в активному пошуку як нових мішеней і ліків, так і методів доставки їх точно до цілі.

Судинні дисфункції призводять до виникнення надзвичайно серйозних хвороб, таких як інфаркт чи інсульт, а також до інших порушень в організмі, що суттєво знижують якість життя. Вивчення даного питання є надзвичайно важливим для попередження серцево-судинних захворювань, зменшення рівня івалідазації населення та подовження тривалості життя.

Головними перевагами фармакогеноміки є: створення більш ефективних і менш шкідливих специфічних препаратів на основі протеїнів, ензимів і молекул РНК, асоційованих з генами та хворобами; збільшення ефективності лікування; дозування відповідно до віку та ваги, індивідуального набору генів; зменшення ймовірності виникнення/розвитку генетичних хвороб; створення вакцин на основі ДНК або РНК, що активують імунну систему та не здатні спричинити інфікування організму, а також є недорогими, стабільними.

Метод РНК-інтерференції є яскравим прикладом використання природних процесів як інструменту для дослідження та терапії. Встановлено, що застосування методу РНК-інтерференції для пригнічення експресії генів викликає тривалий і стабільний інтерференційний ефект, що проявляється в суттєвому зменшенні рівня експресії генів.

Сьогодні фармакогеноміка знаходиться на стадії активного розвитку, що в майбутньому дасть змогу на новому рівні забезпечувати терапію хвороб різного генезу.

Останнім часом велику увагу дослідників привертає вивчення механізмів регуляції судинного тонуусу за участю шляхів, які прямо не пов'язані зі змінами концентрації іонів кальцію та які відіграють досить вагому роль у формуванні судинного тонуусу. Артеріальна гіпертонія має велику кількість мішеней для терапевтичного впливу, тому надзвичайно важливим є застосування надточних ліків.

Результати чисельних досліджень свідчать про те, що роль протеїнакінази С (ПКС) є однією з ключових у регуляції міогенного тонуусу стінки кровоносних судин як за нормальних фізіологічних умов, так і, особливо, за умов розвитку гіпертензивних станів різного генезу. Доказом цього є те, що пригнічення експресії гена  $\delta$ -ізоформи ПКС призводить до суттєвого зниження артеріального тиску в шурів, яке триває протягом тижня. Дотепер серед фармакологічних засобів лікування артеріальної гіпертонії не існує препаратів, дія яких спрямована на пригнічення ПКС у судинній стінці. Дослідження в цьому напрямі можуть призвести до створення нових класів фармакологічних засобів. І саме застосування фармакогеноміки у вигляді РНК-інтерференції за допомогою плазмідних векторів може стати тим інструментом, що шукають упродовж багатьох років дослідники в усьому світі.

*Ключові слова: судинна дисфункція, артеріальна гіпертонія, РНК-інтерференція, фармакогеноміка, фармакотерапія*

**Т. В. Новохацька**

## **Новые подходы к фармакотерапии сосудистой дисфункции при артериальной гипертензии**

Артериальная гипертензия по-прежнему остается болезнью, которая приводит к ухудшению качества жизни населения во всем мире и увеличению количества смертельных случаев. Сегодня существует большое количество препаратов для лечения гипертензивных состояний, однако все они не имеют 100 % эффективности, поскольку существует достаточно большое количество мишеней, причастных к возникновению патологии. Ученые всего мира занимаются активным поиском как новых мишеней и лекарств, так и методов доставки их точно к цели.

Сосудистые дисфункции приводят к возникновению ряда чрезвычайно серьезных болезней, таких как инфаркт или инсульт, а также к другим нарушениям в организме, что существенно снижает качество жизни. Изучение данного вопроса является чрезвычайно важным для предотвращения сердечно-сосудистых заболеваний, уменьшения уровня ивалідазации населения и продления жизни.

Главными преимуществами фармакогеномики являются: создание более эффективных и безопасных специфических препаратов на основе протеинов, энзимов и молекул РНК, ассоциированных с генами и болезнями; увеличение эффективности лечения; дозирование в соответствии с возрастом, весом и индивидуальным набором генотипов; уменьшение вероятности возникновения/развития генетических болезней; создание вакцин на основе ДНК или РНК, которые активируют иммунную систему и не способны вызывать инфицирование организма, а также являются недорогими, стабильными.

Метод РНК-интерференции является ярким примером использования природных процессов как инструмента для исследования и терапии. Установлено, что применение метода РНК-интерференции для подавления экспрессии генов вызывает длительный и стабильный интерференционный эффект и проявляется в существенном уменьшении уровня экспрессии генов.

---

---

Сегодня фармакогеномика находится на стадии активного развития, что в будущем позволит на новом уровне обеспечивать терапию болезней различного генеза.

В последнее время большое внимание исследователей привлечено к изучению механизмов регуляции сосудистого тонуса с участием путей, напрямую не связанных с изменениями концентрации ионов кальция и играющих достаточно важную роль в формировании сосудистого тонуса. Артериальная гипертензия имеет большое количество мишеней для терапевтического воздействия, поэтому чрезвычайно важно применение сверхточных лекарств.

Результаты многочисленных исследований свидетельствуют о том, что роль протеинкиназы С (ПКС) является одной из ключевых в регуляции миогенного тонуса стенки кровеносных сосудов как при нормальных физиологических условиях, так и, особенно, в условиях развития гипертензивных состояний различного генеза. Доказательством этого является то, что подавление экспрессии гена  $\delta$ -изоформы ПКС приводит к существенному снижению артериального давления у крыс, которое длится в течение недели. В настоящее время среди фармакологических средств лечения артериальной гипертензии не существует препаратов, действие которых было бы направлено на подавление ПКС в сосудистой стенке. Исследования в этом направлении могут привести к созданию новых классов фармакологических средств. И именно применение фармакогеномики в виде РНК-интерференции с помощью плазмидных векторов может стать тем инструментом, который ищут на протяжении многих лет исследователи во всем мире.

*Ключевые слова: сосудистая дисфункция, артериальная гипертензия, РНК-интерференция, фармакогеномика, фармакотерапия*

**T. V. Novokhatska**

### **Novel approaches to pharmacotherapy of vascular dysfunction at arterial hypertension**

Arterial hypertension is still a disease that continues to degrade the life's quality worldwide and increases the number of deaths. Today, there are a large number of drugs aimed to treat hypertension, but not all of them are 100 % effective, because there are a large number of targets involved in the occurrence of pathologies. Scientists are still actively searching for both new targets and drugs, and methods of delivering them exactly to the target.

Vascular dysfunction leads to a number of extremely serious diseases, such as heart attack or stroke, as well as to a large number of disorders in the body, which significantly reduces the quality of life. The study of this issue is extremely important for the prevention the main disease in the future, reducing the level of population disability and increasing lifetime.

The main advantages of pharmacogenomics are: the creation of more effective and less harmful specific drugs based on proteins, enzymes and RNA molecules associated with genes and diseases; increase the effectiveness of treatment; dosage according to age, weight and according to an individual set of genes; reducing the likelihood of occurrence/development of genetic diseases; creation of vaccines based on DNA or RNA, which activate the immune system and are not able to cause infection process, would be inexpensive and stable.

RNA interference is a clear example of how natural processes have been used as a tool for research and therapy. This method can be used as a tool for screening, and as the latest therapeutic tool. It was found that the use of RNA interference to suppress gene expression causes a long and stable interference effect, which is manifested in a significant reduction in gene expression.

Today, pharmacogenomics is at the stage of active development, which allows at a new level to provide therapy for diseases of various origins. Recently, great attention has been paid to the study of mechanisms of vascular tone regulation and involving pathways that are not directly related to changes in the concentration of calcium ions and which play a significant role in the formation of vascular tone. Hypertension has a large number of targets for therapeutic effects, so it is extremely important to use high-precision drugs.

The results of numerous studies suggest that the key role of PKC is in the regulation of myogenic tone of blood vessel walls both under normal physiological conditions and, especially, under development of hypertensive conditions of various genesis. Evidence of this is that inhibition of gene expression of the  $\delta$ -isoform of PKC leads to a significant decrease in blood pressure in rats, which lasts for a week. To date, among the pharmacological agents for the hypertension treatment, there are no drugs which action is aimed to suppress PKC in the vascular wall. Research in this area may lead to the creation of new classes of pharmacological agents. And the application of pharmacogenomics in the form of RNA interference with the help of plasmid vectors can become the tool that researchers around the world have been looking for many years.

*Key words: vascular dysfunction, arterial hypertension, RNA interference, pharmacogenomics, pharmacotherapy*

---

*Надійшла: 25 травня 2021 р.*

*Прийнята до друку: 15 червня 2021 р.*

**Контактна особа:** Новохацька Т. В., ДУ «Інститут фармакології та токсикології НАМНУ», буд. 14, вул. Антона Цедіка, м. Київ, 03150. Тел.: + 38 0 44 456 42 46.