

Gongadze N, Gabunia L, Mirziashvili M., Gvishiani M., Archvadze A.

SOLUBLE EPOXIDE HYDROLASE AS A NEW TARGET FOR THERAPEUTIC INTERVENTION

TSMU, DEPARTMENT OF MEDICAL PHARMACOLOGY AND PHARMACOTHERAPY

Soluble epoxide hydrolase (sEH) – a bifunctional homodimeric enzyme located in both cytosol and peroxisomes (2, 23, 24) was identified in plants and mammals (19). sEH facilitates the conversion of epoxyeicosatrienoic acids (EETs) to the biologically less active dihydroxyeicosatrienoic acids (DHETs). Unlike prostaglandins, the EETs and DHETS can be incorporated into phospholipids, which then act as storage sites (10). The sEH is thought to take part largely in the metabolism of arachidonic, linoleic and other fatty acid epoxides, endogenous chemical mediators playing an important role in blood pressure regulation and inflammation (20, 21). It has been shown that inhibition of sEH by trans-4[4(3-adamantan-1-yl-ureido)-cyclohexyloxy]-benzoic acid (t-AUCB) may lead to elevation of EETs level which in turn could elicit various beneficial biological effects in different conditions, such as hypertension, pulmonary diseases, diabetes, atherosclerosis, inflammation etc (9, 10). It was established that EETs are synthesized in endothelial cells and may lead to vasodilation by activating the smooth muscle large conductance Ca²⁺ activated K channels, resulting in smooth muscle cell hyperpolarization in a number of vascular beds (3, 14).

An increasing number of experimental studies suggest that sEH inhibitors by elevation of EETs level could reduce arterial pressure in spontaneously hypertensive rats (SHRs) and in angiotensin II (Ang II) – treated animals, caused the reduction of the afferent kidney arteriolar diameter and urinary albumin secretion, a marker of compromised renal function (7, 8, 10, 12). Subsequent studies in coronary, renal and cerebral vasculatures showed that regioisomeric EETs resulted in increases in organ blood flow or vascular diameters (1, 3, 5, 22). It was believed (18) that EETs are vasodilators and serve as an endothelium-derived hyperpolarizing factor (EDHF). In experimental a study was determined the direct actions of EETs on cardiac myocytes and heart function (9, 17). It was shown that bovine and porcine coronary arteries were the blood vessels where CYP2C and EETs were implicated as major contributors to EDHF responses (10, 18). Additionally increasing number of evidence demonstrates that DHETs possess vasodilator activity in the coronary circulation (10), relaxing coronary arteries by activating smooth cell K_{Ca} channels, but this effect is less potent in comparison with EETs (14).

Epoxygenase metabolites contribute importantly to vascular homeostasis. It was demonstrated EETs angiogenic, antiaggregatory and anti-inflammatory properties indicating about multiple roles of EETs in vascular biology (5, 8, 11). EETs and CYP epoxygenases can protect cells from apoptosis induced by TNF α , which was proved by overexpression of CYP epoxygenases (10, 25). Inhibition of sEH has also been demonstrated to protect the brain from ischemic injury by protecting neurons from cell death (11, 13).

In light of the anti-inflammatory and antihypertensive properties the sEH inhibitor 1-cyclohexyl-3-dodecyl urea (CDU) inhibits human vascular smooth muscle (VSM) cell

proliferation in a dose-dependent manner which is associated with a decrease in the level of cyclin D1 (10). It is suggested (10, 12) that the urea class of sEH inhibitors may be useful for the treatment of arterial hypertension and atherosclerosis characterized by exuberant VSM cell proliferation and vascular inflammation (4, 6, 8, 9, 15). There is also significant evidence that EETs and sEH inhibitors produce antiinflammatory effects against acute and chronic inflammation (23). 11, 12-EET decreased the number of adherent and rolling mononuclear cells in mice carotid arteries following TNF- α injection, which was similar to that observed after administration of VCAM-1 blocking antibody (2, 10). At the same time 11, 12-EET administration to bovine endothelial cells diminished VCAM-1 expression and nuclear factor κ B (NF κ B) promoter activity (10). Along with this data experimental findings showed that proinflammatory mediators like cytokines and lipopolysaccharide (LPS) decrease endothelial epoxygenase expression and EET generation, while TNF- α or chemokine receptor-2 inhibition leads in an increase in CYP2C protein expression in rodents (10), suggesting about important regulatory role of EET in vascular inflammation.

The sEH inhibitors also may be useful in the treatment of transplant vasculopathy and restenosis after angioplasty (8, 9), the processes that are characterized by aberrant proliferation of VSM cells. Whether the VSM cell growth-inhibitory effect of these inhibitors is caused by sEH inhibition or is an effect of the ureas on other cellular substrates has not been established, however their action on hypertension, inflammation and VSM cell proliferation offers an approach for the treatment of diseases that result in atherosclerosis (10, 11, 16).

In conclusion it may be suggested that sEH inhibitors and EETs as novel compounds improving vascular function are valuable agents for the therapeutic intervention of different cardiovascular and renal diseases.

References:

1. Ai D., Pang W., Li N., Xu M. et al. Soluble epoxide hydrolase plays essential role in angiotensin II-induced cardiac hypertrophy. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*, 2009, 106:564-569.
2. Davis B.B., Thompson D. A., Howard L. L., Morisseau C., Hammock B. D. Inhibitors of soluble epoxide hydrolase attenuate vascular smooth muscle cell proliferation. www.pnas.org/cgi/doi/10.1073.pnas.261710799
3. Dimitripoulou C., West L., Field M. B., White R. E., Reddy L. M., Falck R., Imig D. Protein phosphatase 2A and Ca²⁺-activated K channels contribute to 11,12-epoxyeicosatrienoic acid analog mediated mesenteric arterial relaxation. *J. Prostaglandins and other lipid mediators*. 2007, 83:50-61.
4. Dorrance A. M., Rupp N., Pollock D. M., Newman J. N., Hammock B. D., Imig D. An epoxide hydrolase inhibitor, 12-(3-adamantan-1yl-ureido) dodecanoic acid (AUDA) reduces ischemic cerebral infarct size in stroke-prone spontaneously hypertensive rats. *J. Cardiovasc. Pharmacol.* 2005, 46:842-848.
5. Fleming I. Cytochrome P450 and vascular homeostasis. *J. Circ. Res.* 2001, 89:753-762.

6. Fornage M., Hinojos C. A., Nurowska B. W. et al. Polymorphism in soluble epoxide hydrolase and blood pressure in spontaneously hypertensive rats. *J. Hypertension*. 2002, 40:485-490.
7. Honetschlagerova Z., Vanourkova Z., Sporkova A., Kramer H. J. et al. Renal mechanisms contributing to the antihypertensive action of soluble epoxide hydrolase inhibition in Ren-2-transgenic rats with inducible hypertension. *J. Physiol*. 2010, 589:207-219.
8. Imig D. Targeting epoxides for organ damage in hypertension. *J. Cardiovasc. pharmacol* 2010. 56:329-335.
9. Imig D., Hammock B. D. Soluble epoxide hydrolase as a therapeutic target for cardiovascular diseases. *J. Nat. Rev. Drug. Discov*. 2009, 8:794-805.
10. Imig J. D. Epoxides and soluble epoxide hydrolase in cardiovascular physiology. *J. Physiol. Rev*. 2012, 92: 101-130.
11. Imig D., Simpkins A. N., Renic M., Harder D. K. Cytochrome p-450 eicosanoids and cerebral vascular function. *Expert Rev. Mol. Med*. 2011. 13:17.
12. Imig D., Zha X., Zaharis C. Z., Olearczyk J. I., Pollock D. M. et al. An orally active epoxide hydrolase inhibitor lowers blood pressure and provides renal protection in salt sensitive hypertension. *J. Hypertension*. 2011. 19: 983-992.
13. Koerner I. P., Jacks R., Debarber A. E., Koop D., Mao P., Grant D. F., Alkayed N. J. Polymorphisms in the human soluble epoxide hydrolase gene EPHX2 linked to neuronal survival after ischemic injury. *J. Neurosci* 2007, 27:4642-4649.
14. Larsen B. T., Miura H., Hatoum O. A., Campbell W. B., Hammock B. D., et al. Epoxyeicosatrienoic and dihydroxyeicosatrienoic acids dilate human coronary arterioles via BK (Ca) channels implications for soluble epoxide hydrolase inhibition. *Am. J. Physiol. Heart circ. Physiol*. 2006, 290:H491-H499.
15. Li J., Carroll M. A., Chander P. N., Falck R., Sangras B., Sier C. T. Soluble epoxide hydrolase inhibitor, AUDA, prevents early salt-sensitive hypertension. *Front. Biosci* 2008, 13:3480-3487
16. Marino P. J. Soluble epoxide hydrolase, a target with multiple opportunities for cardiovascular drug discovery. *Curr. Top. Med. Chem*. 2009, 9:452-463.
17. Merkel M. J., Liu L., Cao Z., Packwood W., Young J. et al. Inhibition of soluble epoxide hydrolase preserves cardiomyocytes role of STAT3 Signaling. *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol*. 2010, 298:H679-687.
18. Michaelis U. R., Fleiming J. From endothelium-derived hyperpolarizing factor (EDHF) and cell signaling *pharmacol. Ther* 2006, 111:584-595.
19. Morisseau C., Hammock B. D. Epoxide hydrolases mechanisms, inhibitor designs, and biological roles *Annu. Rev. Pharmacol, Toxicol*. 2005, 45:311-333.
20. Node K., Huo Y., Ruan X., Yang B. et al. Anti-inflammatory properties of cytochrome p-450 epoxygenase-derived eicosanoids. *J. Science* 1999; 235:1276-1279.
21. Roman R. J. p-450 metabolites of arachidonic acid in the control of cardiovascular function. *J. Physiol. Rev*. 2002;82:131-185.

22. Simpkins A. N., Rudic R. D., Schreihof D. S., Roy S., Manhiani M. et al. Soluble epoxide inhibition is protective against cerebral ischemia via vascular and neural protection. *Am. J. Pathol.* 2009. 174:2086-2095.

23. Schmelzer K. R., Kubala L., Newman J. A. et al. Soluble epoxide hydrolase is a therapeutic target for acute inflammation. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.* 2005, 102:9772-9777.

24. Spector A. A., Fang X., Snyder G. D., Weintraub N. L. Epoxyeicosatrienoic acids (EETs) metabolism and biochemical function. *J. Prog. Lipid Res.* 2004, 43:55-90.

25. Yang S., Lin L., Chen J. K., Lee C. R., Seubert S. M. et al. Cytochrome p-450 epoxygenases protect endothelial cells from apoptosis induced by tumor necrosis factor alpha via MAPK and PI3K/Akt signaling pathways. *Am. J. physiol. Heart Circ. Physiol.* 2007, 293:H142-H151.

გონგაძე ნ., გაბუნია ლ., მირზიაშვილი მ., გვიშიანი მ. არჩვაძე ა.

ხსნადი ეპოქსიდ ჰიდროლაზა, როგორც ახალი სამიზნე თერაპიული ინტერვენციისთვის

თსსუ, სამედიცინო ფარმაცოლოგიისა და ფარმაკოთერაპიის დეპარტამენტი

ხსნადი ეპოქსიდ ჰიდროლაზა (ეჰ) ბიფუნქციური ჰომოდიმერული ფერმენტი იდენტიფიცირებულია როგორც მცენარეებში, ასევე ძუძუმწოვრებში. იგი ხელს უწყობს ეპოქსიეიკოზატრიენოს (ეეტ) მჟავების კონვერსიას ბიოლოგიურად ნაკლებად აქტიურ დიჰიდროქსიეიკოზატრიენოს მჟავებად (დეეტ).

ხსნადი ეჰ მონაწილეობს არაქიდონის, ლინოლეის და სხვა ცხიმოვანი მჟავების ეპოქსიდების მეტაბოლიზმში ისევე, როგორც ენდოგენური ქიმიური მედიატორების ლიბერაციის პროცესში. ბოლო წლების ლიტერატურული მონაცემების თანახმად, ხსნადი ეჰ ინჰიბიტორები ეეტ-ს დონის მომატებით ისევე, როგორც თვით ეეტ ხელს უწყობენ პოზიტიური ცვლილებების განვითარებას არტერიული ჰიპერტენზიის, დიაბეტის, ათეროსკლეროზის და ანთებითი დაავადებების მიმდინარეობის პროცესში. ეს ნაერთები გლუვი კუნთების ე.წ. მაღალი გამტარობის Ca^{2+} - აქტივირებული K^{+} -ის არხების გახსნით და უჯრედების ჰიპერპოლარიზაციით ავლენენ ძლიერ ვაზოდილატაციურ თვისებებს. ექსპერიმენტული კვლევებით დადასტურებულია მათი ჰიპოტენზიური ეფექტი სპონტანური ჰიპერტენზიის მქონე ვირთაგვებში და ანგიოტენზინ II-ით გამოწვეული არტერიული ჰიპერტენზიის დროს თირკმლების კომპრომეტირებული ფუნქციით, რაც არტერიული წნევის დაქვეითებასთან ერთად ვლინდებოდა შარდში ალბუმინის სეკრეციის შემცირებით. სხვა კვლევებით ნაჩვენებია, რომ ეეტ-ის მჟავების იზომერები სისხლძარღვთა დიამეტრის მომატებით ზრდიან სისხლის მიმოქცევას სხვადასხვა ორგანოებში, რაც ასოცირდება ენდოთელიუმის მიერ ჰიპერპოლარიზაციული ფაქტორის პროდუქციასთან. ვასკულურ ფუნქციაზე ზეგავლენასთან ერთად, აღნიშნული ნაერთები კარდიომიოციტებზე უშუალო მოქმედებითაც ხასიათდება. გამოთქმულია მოსაზრება, ხსნადი ეჰ-აზას ინჰიბიტორებისა და ეეტ-ს სისხლძარღვთა ჰომეოსტაზში შესაძლო მონაწილეობის შესახებ. ამასთან ერთად, გამოვლენილია ამ ნაერთების

პროტექტული თვისებები თავის ტვინის იშემიური დაზიანების დროს. დადგენილია ხსნადი ეკ-აზას ინჰიბიტორებისა და ეეტ-ს ანთების საწინააღმდეგო და ანტიპროლიფერაციული თვისებები, რაც უკავშირდება TNF α -თი ინდუცირებული აპოპტოზის მოვლენების შემცირებას. ექსპერიმენტულ კვლევებში ხსნადი ეკ-ას ინჰიბიტორები და ეეტ ამცირებდნენ საძილე არტერიაში ადჰეზიური მოლეკულების და მონონუკლეური უჯრედების რაოდენობას TNF- α -ას შეყვანის შემდეგ. მათ ასევე გამოავლინეს ეფექტურობა ანგიოპლასტიკის შემდეგ განვითარებული ვასკულოპათიებისა და რესტენოზის დროს, რაც განპირობებულია სისხლძარღვთა გლუვი კუნთების უჯრედების პროლიფერაციის დათრგუნვით. პოსტულირებულია, რომ ხსნადი ეკ-აზას სხვადასხვა ინჰიბიტორები და EEt-ს იზომერები წარმოადგენენ მეტად პერსპექტიულ ნაერთებს, განსაკუთრებით გულ-სისხლძარღვთა სისტემის დაავადებების თერაპიული ინტერვენციისთვის.