

©Потеряева, Усынин

МОЛЕКУЛЯРНЫЕ МЕХАНИЗМЫ ДЕЙСТВИЯ И ФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ ЭФФЕКТЫ С-ПЕПТИДА ПРОИНСУЛИНА (СИСТЕМАТИЧЕСКИЙ ОБЗОР)

О.Н. Потеряева, И.Ф. Усынин*

Научно-исследовательский институт биохимии,
Федеральный исследовательский центр фундаментальной и трансляционной медицины,
630117, Новосибирск, ул. Тимакова, 2; *эл. почта: olga_Poteryaeva@mail.ru

С-пептид — фрагмент проинсулина, в результате отщепления которого образуется активный инсулин. За последние годы появилась новая информация о физиологических эффектах С-пептида, свидетельствующая о его положительном влиянии на функции многих органов и тканей, в том числе почки, нервную систему, сердце, сосудистый эндотелий и микроциркуляцию крови. Исследования на животных с использованием экспериментальных моделей сахарного диабета, а также клинические наблюдения пациентов с сахарным диабетом продемонстрировали, что С-пептид оказывает важное регуляторное влияние на ранних стадиях функциональных и структурных нарушений, вызванных этим заболеванием. Свои эффекты С-пептид осуществляет, связываясь со специфическим рецептором на клеточной мембране. Внутриклеточная передача сигналов осуществляется через G-белки и Ca^{2+} -зависимые пути, что приводит к активации и повышенной экспрессии эндотелиальной синтазы оксида азота, Na^+/K^+ -аденозинтрифосфатазы и важных факторов транскрипции, участвующих в апоптозе, противовоспалительных и других внутриклеточных защитных механизмах. Цель данного обзора — дать представление о С-пептиде как о биоактивном эндогенном пептиде, обладающем собственной биологической активностью с терапевтическим потенциалом.

Ключевые слова: С-пептид проинсулина; механизм действия; диабетическая нефропатия, нейропатия; апоптоз; обзор

DOI: 10.18097/PBMC20206603196

ВВЕДЕНИЕ

Несмотря на то, что инсулин был открыт Ф. Бантингом и Ч. Бестом почти 100 лет назад как метаболический гормон поджелудочной железы, этот белок до сих пор остаётся предметом интенсивного исследования. Накоплены обширные данные по структуре и функциям инсулина, его рецептору и последствиям нарушения инсулиновой сигнальной системы при сахарном диабете (СД). Однако литературы, посвященной регуляторной и диагностической роли исходной молекулы проинсулина и С-пептида, образующегося в процессе созревания инсулина, недостаточно [1]. Роль проинсулина в регуляции метаболических путей и сохранении функциональной активности клеток в физиологических условиях, в процессе старения и при патологии обсуждалась в недавнем обзоре [2]. Имеющиеся в научной литературе сведения обосновывают включение проинсулина в суперсемейство сигнальных факторов. Обсуждается нейропротекторная активность проинсулина и его потенциал в качестве терапевтического средства при лечении нейродегенеративных заболеваний и дистрофии сетчатки глаза [2].

Настоящий обзор посвящён обобщению новых фактов о клеточных механизмах действия и физиологических эффектах С-пептида. В 70-х годах прошлого столетия исследователи уже пытались показать возможную регуляторную функцию С-пептида вне β -клеток. Однако проведённые в то время экспериментальные исследования

не позволили получить убедительные доказательства физиологического действия С-пептида, аналогичного действию инсулина [1].

С-пептид (от англ. connecting peptide) представляет собой полипептид, состоящий из 31 аминокислотного остатка (а.о.), с формулой $\text{C}_{112}\text{H}_{179}\text{N}_{35}\text{O}_{46}$ и молекулярным весом 3020,29 г/моль [3]. Он несёт отрицательный заряд и в физиологических условиях не имеет третичной структуры [4]. Изoeлектрическая точка (pI) С-пептида равна 3,45 из-за большого числа отрицательно заряженных а.о. Пептид не содержит остатков ароматических аминокислот, проявляя хорошую растворимость в водных растворителях [5]. С-пептид попадает в кровь в концентрации, эквивалентной инсулину. Время полужизни инсулина в периферической крови составляет около 4 мин. Основная часть инсулина (80%) подвергается протеолитическому распаду в печени, остальная часть — в почках, жировых и мышечных клетках. С-пептид из кровотока печенью не удаляется, его период полувыведения составляет около 30 мин у здоровых людей и еще больше у пациентов с СД. С-пептид подвергается катаболизму главным образом в почках, при этом лишь небольшая часть выделяется с мочой. Поэтому по содержанию С-пептида в крови можно косвенно судить об инсулин-секретирующей способности островкового аппарата поджелудочной железы [4].

В настоящее время накопилось достаточно доказательств в пользу С-пептида как биомолекулы, обладающей собственной биологической активностью с терапевтическим потенциалом.

1. МОЛЕКУЛЯРНЫЕ МЕХАНИЗМЫ ДЕЙСТВИЯ С-ПЕПТИДА

1.1. Стабилизация молекулы инсулина

Основной функцией С-пептида на этапе синтеза биологически активной молекулы инсулина является обеспечение правильной укладки его А- и В-цепей и их сшивки дисульфидными связями. Взаимодействие N-концевого участка С-пептида с инсулином обеспечивает правильное сворачивание всей молекулы и её сохранение в биологически активной форме в секреторных гранулах β -клеток. Это взаимодействие, вызывая дезагрегацию олигомерных комплексов инсулина, ведет к сдвигу равновесия в сторону его мономерных форм, обладающих гипогликемической активностью. Таким образом, С-пептид регулирует способность инсулина снижать уровень глюкозы в крови [6]. Было показано, что так называемый скремблированный С-пептид (вариант пептида с рандомизированной последовательностью) не может связываться с инсулином [5]. В отсутствие С-пептида и катионов цинка синтезированный *de novo* инсулин быстро агрегирует с образованием амилоидоподобных фибрилл, что приводит к гибели β -клеток и развитию СД [7]. Предполагают, что С-пептид определяет соотношение кристаллической и растворимой форм инсулина [5].

У крыс подкожное совместное введение инсулина и С-пептида приводило к повышению биоактивности инсулина на уровне тканевого поглощения глюкозы, внутриклеточной сигнализации и активации ферментов. Эти эффекты, возможно, осуществлялись благодаря усилению С-пептид-опосредованной дезагрегации гексамерного инсулина в его физиологическую активную мономерную форму [8].

1.2. Специфическое связывание С-пептида с клеточными мембранами

До недавнего времени С-пептид рассматривали как биологически инертную молекулу, служащую для правильной укладки и стабилизации молекулы инсулина. Однако его аминокислотная последовательность демонстрировала значительную большую межвидовую вариабельность по сравнению с инсулином, который в этом отношении более консервативен, что привело к предположению о том, что С-пептид нужен не только при биосинтезе инсулина [4, 7, 9]. Было показано, что у млекопитающих восемь а.о. в положении 1(Glu), 3(Glu), 6(Glu), 11(Glu), 12(Leu), 26(Leu), 27(Glu) и 31(Glu) С-пептида являются высококонсервативными и играют важную роль в его действии [10]. Было установлено, что функциональной активностью обладает С-концевой участок пептида (в том числе консервативные остатки Glu 27 и Glu 31), который отвечает за взаимодействие с рецептором и за регуляцию внутриклеточных сигнальных каскадов [9]. Этот участок у крыс, состоящий из пяти аминокислотных остатков EVARQ, проявлял 100% активность, свойственную интактному С-пептиду, тогда как остальная часть была неактивна.

У человека соответствующий участок пептида (EGSLQ) обладал 75% активностью. Подобные функциональные концевые последовательности также были найдены в гормонах, таких как гастрин, холецистокинин [9] и релаксин [11].

Специфическое связывание С-пептида в культивируемых β -клетках аденомы поджелудочной железы крыс впервые описано в 1986 году. В дальнейшем такое же связывание было показано на эндотелиальных клетках, фибробластах кожи и клетках почечных канальцев [1]. На клетках почечных канальцев человека установлено, что меченый родамином С-пептид вытесняется из мембранной фракции клетки избытком немеченого С-пептида и его СООН-концевого пентапептида, но не инсулином, проинсулином, нейропептидом Y, инсулиноподобными факторами роста (IGF-I, IGF-II), что свидетельствует о специфичности его связывания [12]. С помощью флуоресцентной микроскопии показано, что максимальное число мест связывания для С-пептида на мембране клетки почечных канальцев человека составляет 1000-1500. В концентрации 0,3 нМ С-пептид приводил к 50% насыщению рецепторов; полное насыщение наступало при 0,9 нМ, что находится в диапазоне его физиологических концентраций [12]. При такой концентрации С-пептида можно ожидать, что все сайты связывания будут полностью заняты. Это объясняет отсутствие эффекта — С-пептид не оказывал действия у здоровых людей при использовании супрафизиологических доз [13]. В связи с этим регуляторные эффекты С-пептида проявляются в условиях его острого дефицита при СД 1 типа (СД1), в то время как пациенты с нормальным или повышенным уровнем С-пептида к нему малочувствительны [14, 15].

С-пептид и его СООН-концевой пентапептид специфически связывались с рецептором клеточной мембраны, функционально сопряженным с G-белками ингибирующего типа ($G_{i/o}$), так как обработка коклюшным токсином (КТ, ингибитор $G_{i/o}$ -белков) значительно ингибировала связывание С-пептида с мембраной. Кроме того, показано, что С-пептид не влияет на активность фермента аденилатциклазы, которая ингибируется через посредство сопряженных с $G_{i/o}$ -белками рецепторов и является их основным внутриклеточным эффектором [14, 15]. Выявлена значительная гомология между С-пептидом человека и эндотелинами, которые специфически связываются с рецепторами, сопряженными с $G_{i/o}$ -белками [15]. Используя связывание [35 S]GTPgammaS, авторы наблюдали [16] активирование $G_{i/o}$ -белков при взаимодействии С-пептида с мембранами почечных канальцев опоссума. Такие эксперименты подтверждают существование специфического рецептора GPCR (G-protein-coupled receptor) для С-пептида; инсулин же опосредует свой сигнал через рецепторную тирозинкиназу [17]. Предполагают, что рецептор GRP146 непосредственно вовлечен в реализацию регуляторных эффектов С-пептида [18, 19]. Методом поэтапного нокдауна GRP146 было продемонстрировано, что влияние С-пептида на внутриклеточную передачу сигнала

блокируется siRNA (small interfering RNA; малые интерферирующие РНК). Стимуляция С-пептидом вызывала интернализацию GRP146. Обнаружена совместная локализация пептида и GRP146 на клеточных мембранах. Кроме того, инкубация с антителом, направленным против внеклеточного домена GPR146, полностью блокировала влияние С-пептида, но не инсулина, на высвобождение аденозинтрифосфата (АТФ) из эритроцитов человека [18]. Рецептор GRP146 относится к суперсемейству рецепторов серпантинного типа, семь раз пронизывающих плазматическую мембрану, и функционально взаимодействует с гетеротримерными G-белками [10, 19]. Рецептор GRP146 состоит из 333 а.о. Анализ его первичной структуры, проведённой с помощью программы BLASTp (*Basic Local Alignment Search Tool*), выявил умеренную гомологию (от 20% до 24%) рецептора GRP146 с хемокиновыми рецепторами, рецепторами интерлейкина-8, бомбезина, тахикинина, соматостатина, ангиотензина-II, нейрокинаина и ряда других пептидных гормонов. Степень идентичности с эстрогеновым рецептором GRP30 составила до 44%. Кроме того, многие внутриклеточные мишени и физиологические эффекты С-пептида совпадают с таковыми рецептора GRP30 [15]. Однако попытки идентифицировать взаимосвязь С-пептида с этим рецептором пока остаются безуспешными [14, 15, 20].

С помощью конфокальной микроскопии было показано, что меченый родамином С-пептид проникал через мембрану клеток линии Swiss 3T3 (мышинные эмбриональные фибробласты) и HEK-293 (эмбриональные почки человека) и обнаруживался в цитозоле, где он не подвергался деградации в течение 1 ч после поглощения [21]. Интернализация пептида также была показана в эндотелиальных клетках аорты (НАОЕС) и пупочной артерии (НУАЕС) человека. Пептид был обнаружен в эндосомах, откуда в последующем осуществлялся внутриклеточный сигналинг. Изучение активности С-пептида в этих клетках особенно важно в контексте сосудистой дисфункции, приводящей к осложнениям при СД1. Показано, что пациенты с СД1 при снижении концентрации С-пептида в крови значительно более склонны к развитию микрососудистых осложнений [20, 22].

Связывание С-пептида приводит к активации Ca^{2+} - и MAPK- (mitogen-activated protein kinase) зависимых путей с последующей стимуляцией ферментов эндотелиальной NO-синтазы (eNOS), Na^+/K^+ -аденозинтрифосфатазы и транскрипционных факторов [12].

1.3. Влияние на активность Na^+/K^+ -АТФазы

Na^+/K^+ -аденозинтрифосфатаза (Na^+/K^+ -АТФаза; КФ 3.6.3.9) — олигомерный белковый комплекс, обладающий ферментативной активностью, обеспечивает активный транспорт ионов Na^+ и K^+ против градиента электрохимического потенциала с использованием энергии АТФ. Ранее было отмечено, что при СД активность фермента заметно снижена во многих тканях, в том числе в почечных

канальцах, богатых этими ферментами [23]. В свежеприготовленных проксимальных сегментах почечных канальцев крыс С-пептид дозозависимым способом стимулировал работу Na^+/K^+ -АТФазы, которая полностью подавлялась предварительной инкубацией с КТ [24].

У больных СД1 с полным дефицитом С-пептида активность Na^+/K^+ -АТФазы эритроцитов была значительно снижена, что приводило к деформации эритроцитов и увеличивало вязкость крови. Инкубация цельной крови пациентов СД1 в присутствии С-пептида (от 0,6 нМ до 66,0 нМ) приводила к уменьшению деформации эритроцитов. Поскольку данный эффект блокировался убаином (ингибитор Na^+/K^+ -АТФазы), предполагается, что в механизме действия С-пептида на эритроциты больных участвует эритроцитарная Na^+/K^+ -АТФаза [22, 25, 26]. Активность фермента у больных СД1 снижалась пропорционально уменьшению концентрации пептида. Введение С-пептида таким больным повышало активность фермента при максимальной концентрации С-пептида в плазме крови 3,5 нМ [27]. Подобные увеличение активности фермента и снижение проявлений нейропатии наблюдали в периферических нервах диабетических крыс [28], а также после трансплантации островковых клеток с восстановлением секреции эндогенного С-пептида [29].

В основе молекулярного механизма влияния С-пептида на активность Na^+/K^+ -АТФазы лежит активация Ca^{2+} -зависимой протеинкиназы С (ПКС). Физиологические концентрации С-пептида (0,9 нМ) вызывали повышение уровня внутриклеточного Ca^{2+} [30], транслокацию Ca^{2+} -зависимой ПКС в плазматическую мембрану и фосфорилирование α -субъединицы Na^+/K^+ -АТФазы [9].

Обсуждаемый в литературе механизм влияния С-пептида на активность Na^+/K^+ -АТФазы представлен на рисунке 1. С-пептид связывается с рецептором (GRP146) и через КТ-чувствительный $G_{i/o}$ -белок активирует как фосфолипазу $\text{C}\beta$ (ФЛС β , PLC β), так и фосфатидилинозитол-3-киназу (ФИ-3-К, PI3-К).

Стимулированная γ -димером $G_{i/o}$ -белка ФЛС β расщепляет фосфатидилинозитол-4,5-дифосфат с образованием вторичных посредников — инозитол-1,4,5-трисфосфата (ИФ $_3$) и диацилглицерина (ДАГ). Гидрофильное соединение ИФ $_3$ выходит в цитозоль, где взаимодействует с ИФ $_3$ -рецепторами в мембранах эндоплазматического ретикула, что приводит к освобождению из него ионов Ca^{2+} . Связывание ПКС с ионами кальция в цитозоле стимулирует перемещение белка к плазматической мембране и повышает сродство к фосфатидилсерину (ФС) мембраны, что позволяет ферменту связаться с ДАГ, который ещё больше повышает сродство ПКС к ионам Ca^{2+} . Ионы Ca^{2+} , ДАГ и ФС активируют регуляторный домен ПКС α , что приводит к фосфорилированию α -субъединицы Na^+/K^+ -АТФазы и повышению её активности [9].

Кроме того, С-пептид в физиологических концентрациях стимулирует активность “новых” изоформ ПКС, которые могут активировать этот

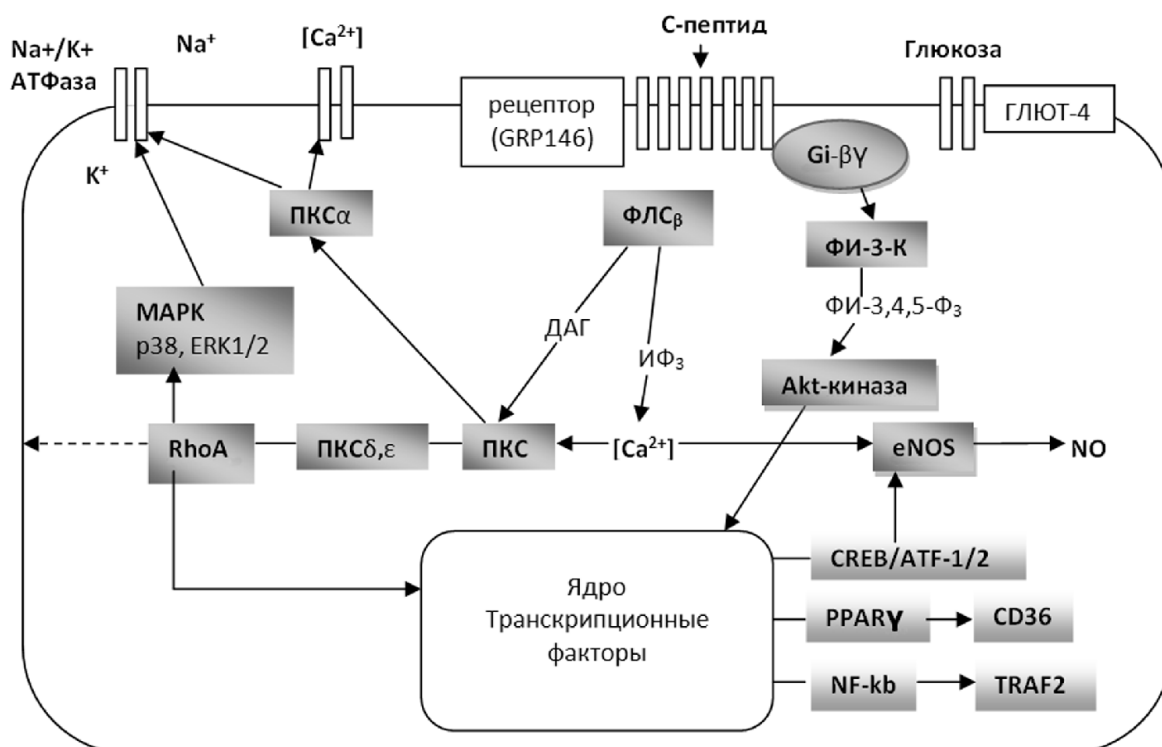


Рисунок 1. Схематичное представление клеточных сигнальных путей С-пептида (адаптировано из [9]). С-пептид связывается со специфическим рецептором (GRP146) и при участии $G_{i/o}$ -белков запускает фосфолипидный или 3-фосфоинозитидный сигнальные пути. Активная фосфолипаза $C\beta$ катализирует синтез вторичных посредников — диацилглицерола и инозитол-1,4,5-трисфосфата, что приводит к повышению концентрации внутриклеточного $[Ca^{2+}]$, активации различных изоформ протеинкиназы C, MAPK, эндотелиальной изоформы NO-синтазы и Na^+/K^+ -АТФазы. ФИ-3-К обеспечивает передачу сигналов к ядру, активируя транскрипционные факторы PPAR γ , GREB, ATF, NF- κ B. ФЛС β — фосфолипаза $C\beta$; ДАГ — диацилглицерол; ИФ $_3$ — инозитол-1,4,5-трисфосфат; PKC α,δ,ϵ — различные изоформы протеинкиназы C; MAPK — митогенактивированные протеинкиназы; ФИ-3-К — фосфатидилинозитол-3-киназа; NO — оксид азота; eNOS — эндотелиальная синтаза оксида азота; RhoA — “малые” G-белки с GTPазной активностью.

фермент путём стимуляции одного из ключевых сигнальных путей MAPK (рис. 1). Изоформы PKC δ,ϵ вызывают транслокацию RhoA-белка (малого белка Rho-семейства с GTPазной активностью) из цитоплазмы к плазматической мембране с последующей стимуляцией MAPK: ERK1/2 (extracellular signal-regulated kinase), p38-MAPK. Фосфорилирование MAPK стимулирует активность натрий-калиевого насоса [9, 12, 14, 15]. Кроме того, MAPK активируют транскрипционные факторы (PPAR γ , ZEB), которые усиливают экспрессию α -субъединицы Na^+/K^+ -АТФазы [9, 14].

Инкубация клеток почечных канальцев, полученных от пациентов, перенесших плановую нефрэктомия, с человеческим С-пептидом увеличивала фосфорилирование остатков Thr на α -субъединице ERK1/2. С-концевой пентапептид С-пептида был функционально равноценен полноразмерному С-пептиду, тогда как скремблированный С-пептид был не активен. Применение ингибиторов PD98059 (ингибитор ERK1/2), роттлерина (изоформоспецифического ингибитора PKC) и GF109203X (ингибитора PKC широкого спектра действия) блокировало влияние С-пептида на фосфорилирование ERK1/2 [31]. Способность С-пептида активировать ERK1/2

показана на клеточной линии Swiss 3T3. Активация зависела от времени воздействия и концентрации С-пептида человека (от 1 пМ до максимальной концентрации 1 нМ), эффекты также ингибировались КТ [32]. Кроме того, фосфорилирование киназы ERK1/2, индуцированное С-пептидом, было обнаружено в эндотелиальных клетках капилляров лёгких мыши [33], миоблестах скелетных мышц крысы [34], клетках проксимальных почечных канальцев опоссума [35]. В последних максимальная активация ERK1/2 достигалась в присутствии 300 нМ С-пептида, а для последующей стимуляции PKC α требовалось 5 нМ С-пептида [35].

1.4. Регуляция экспрессии эндотелиальной синтазы оксида азота

Эндотелиальная NO-синтаза (eNOS), изоформа фермента, которая стабильно экспрессируется в клетках эндотелия сосудов, катализирует синтез оксида азота (NO), ответственного за вазодилатацию. Снижение активности eNOS при СД ухудшает микроциркуляцию в тканях и ведёт к развитию микрососудистых осложнений [12]. С-пептид стимулирует активность eNOS путём активации ФЛС β и последующего повышения концентрации внутриклеточного Ca^{2+} [14, 31].

Кроме того, фосфорилирование p38-MAPK, индуцированное С-пептидом, активирует транскрипционные факторы CREB (cAMP-response-element-binding protein) и ATF-1/2 (activating transcription factor 1), которые, в свою очередь, увеличивают экспрессию eNOS и синтез NO (рис. 1). Показано, что С-пептид вызывает высвобождение NO в эндотелиальных клетках *in vitro*. Стимулирующий эффект С-пептида имел дозозависимый характер и не проявлялся в среде без Ca^{2+} [30]. Повышение экспрессии мРНК eNOS [36] и продукции eNOS [37] под влиянием С-пептида обнаружено в мезентериальных венах, в эндотелиальных клетках лёгких и аорты экспериментальных животных. Причём экспрессия белка eNOS усиливалась за счёт повышения внутриклеточной активности Ca^{2+} и MAPK-зависимой активации транскрипции [30, 37].

При введении С-пептида животным с экспериментальным диабетом и больным СД1 наблюдали дозозависимое повышение кровотока в мышцах, коже и почках. Этот эффект был опосредован через мембранный рецепторный G-белок мелких кровеносных сосудов, который приводил к повышению концентрации NO в крови. Микроваскулярный эффект осуществлялся за счёт активации eNOS, в результате снижался сосудистый тонус, благодаря чему отдалось развитие диабетических осложнений (ретинопатии, нефропатии). В моделях *in vitro* эффекты, вызванные влиянием С-пептида на активацию eNOS, тормозили КТ и кальций-связывающие агенты [9, 12].

У крыс со стрептозотоциновым (STZ) СД физиологические концентрации С-пептида пролонгировали гипогликемическое состояние, вызванное инсулином, и значительно увеличивали утилизацию глюкозы. Эти эффекты блокировал ингибитор eNOS — L-NMMA (N^G -monomethyl-L-arginine), что подтверждает гипотезу об участии NO в реализации действия С-пептида [38].

1.5. Регуляция активности транскрипционных факторов

Известно, что сигнальные пути MAPK контролируют транскрипцию генов, метаболизм, пролиферацию и подвижность клеток, апоптоз и другие процессы [39]. Взаимодействие С-пептида с рецептором активирует MAPK-пути и ФИ-3-К (рис. 1), последняя катализирует синтез вторичного посредника, фосфатидилинозитол-3-фосфата (ФИ-3,4,5- P_3). Вместе они обеспечивают передачу эффекторных сигналов к ядру, активируя такие транскрипционные факторы, как ядерные рецепторы PPAR γ (peroxisome proliferator-activated receptors), универсальный фактор транскрипции — ядерный фактор κB (nuclear factor κB , NF- κB). Они, в свою очередь, активируют рецептор CD36 и медиатор клеточной активации TRAF2 [9].

Ядерные транскрипционные факторы PPAR из семейства гормональных рецепторов осуществляют контроль над углеводным и жировым обменом, воспалением и состоянием эндотелия сосудов.

Активация PPAR γ сокращала гиперпродукцию мезангиального матрикса в экспериментальных моделях диабетической нефропатии (ДН). Транскрипционный фактор PPAR γ , подавляя активность TGF- β 1 (transforming growth factor beta) и ингибитора активатора плазминогена-1, снижал синтез и увеличивал протеолиз внеклеточного матрикса, что приводило к уменьшению размеров клубочков, способствуя замедлению развития ДН [40]. Тиазолидиндион (глитазон) стимулировал активность рецепторов PPAR γ [40]. Показано, что инсулин и С-пептид существенно увеличивали действие PPAR γ . Антагонист рецепторов PPAR γ , Gw9662, препятствовал активации PPAR γ глитазоном, но не влиял на концентрационно-зависимую стимуляцию транскрипционной активности рецепторов под действием инсулина или С-пептида. Эти эффекты были ослаблены предварительной обработкой КТ или ингибитором ФИ-3-К — вортманнином [35].

Кроме того, PPAR γ регулируют экспрессию рецептора CD36, который уменьшает инсулинорезистентность и повышает чувствительность к инсулину при действии глитазона [41]. Стимуляция клеток THP-1 (моноцитарная линия клеток человека) С-пептидом (5 нМ), инсулином (100 нМ) или форбол-12-миристан-13-ацетатом (индуктор дифференцировки макрофагов) в течение 48 ч увеличивала уровни белка CD36 в 2, 2,2 и 2,5 раза по сравнению с базальным уровнем соответственно [35].

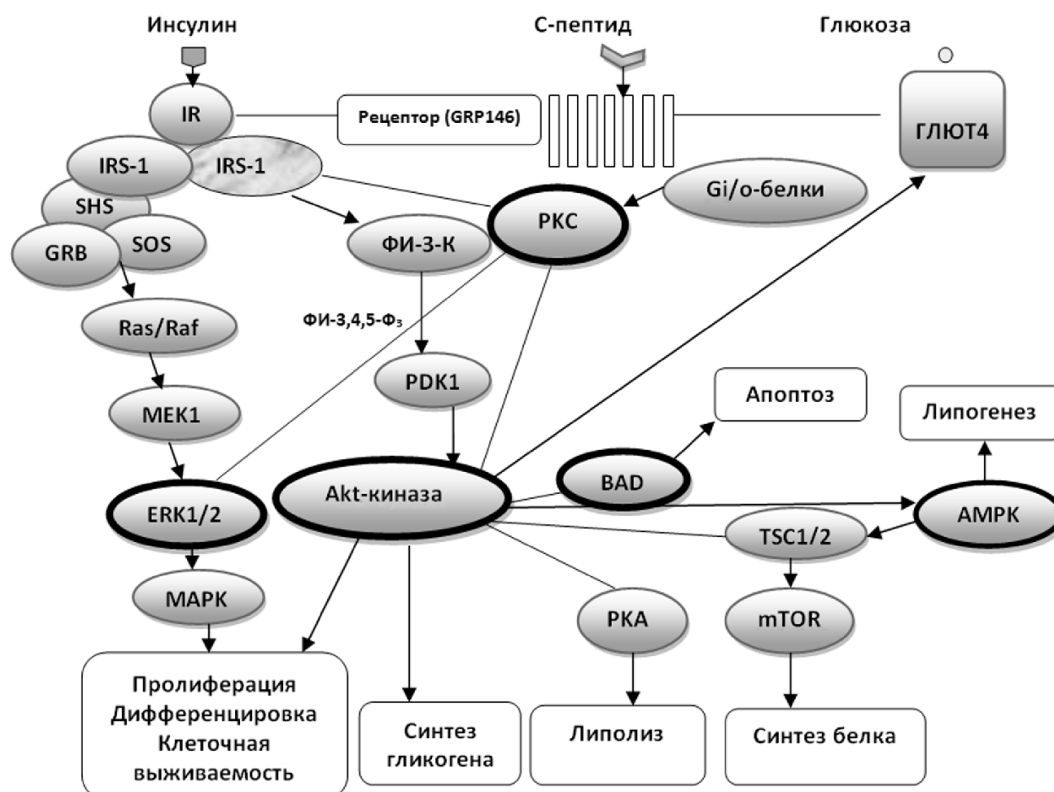
В литературе обсуждается сигнальный каскад, в котором С-пептид стимулирует сопряжённую с $\text{G}_{i/o}$ -белками γ -изоформу ФИ-3-К, которая через посредство Akt-киназы, активирует транскрипционный фактор PPAR γ , что приводит к повышению экспрессии гена, кодирующего α -субъединицу Na^+/K^+ -АТФазы [15, 36].

Как известно, фактор NF- κB контролирует очень большую группу генов, которые отвечают за процессы воспаления, пролиферацию клеток и апоптоз. В частности, NF- κB стимулирует транскрипцию антиапоптотических факторов, которые модулируют активность каспаз [16]. Установлено, что С-пептид, также как и инсулин, модулирует NF- κB -зависимые регуляторные пути клеток [10]. Предварительная обработка клеток проксимальных канальцев почки опоссума КТ в течение 18 ч блокировала активацию и транслокацию NF- κB . Предварительная обработка клеток вортманнином в течение 30 мин значительно ослабляла эффекты С-пептида и инсулина на активность NF- κB . Ингибитор MG-132 (специфичный ингибитор NF- κB) противодействовал защитному действию С-пептида на апоптоз, индуцированный TNF- α [16].

Транскрипция гена TRAF2 (TNF receptor-associated factor 2) регулируется NF- κB и может усиливаться С-пептидом. В клетках проксимальных канальцев при высокой концентрации TNF- α происходила дегградация TRAF2, что усиливало апоптоз клеток. С-пептид, активируя NF- κB , предупреждал распад TRAF2, тем самым ингибируя проапоптотическую передачу сигналов через TNF- α [16].

Характер влияния С-пептида на инсулиновую сигнальную систему зависит от стехиометрического соотношения инсулина и С-пептида: высокие концентрации С-пептида ингибируют её, низкие — повышают. В последнем случае С-пептид

Наряду с контролем диссоциации олигомерного комплекса инсулина, С-пептид способен модулировать функциональную активность инсулинового сигналинга. Потенциально возможные взаимодействия между С-пептидом и инсулином представлены на рисунке 2. Инсулин связывается с рецептором инсулина и проявляет нисходящие эффекты посредством стимуляции ФИ-3-К, Акт-киназы (протеинкиназа В, АКТ), АМРК (АМФ-активируемая протеинкиназа) и MAPK. С-пептид может взаимодействовать с индуцированными инсулином сигнальными каскадами в нескольких точках (рис. 2, обведены жирным). Было показано, что С-пептид усиливает фосфорилирование остатков тирозина субстрата-1 инсулинового рецептора (IRS-1), что способствует индукции ФИ-3-киназы и АКТ [34]. Активации АКТ С-пептидом приводит к транслокации в плазматическую мембрану транспортера глюкозы GLUT4, что ведет к стимуляции захвата глюкозы клетками. Также через АКТ, активированную С-пептидом, регулируются другие метаболические эффекты (рис. 2). Модулирование ERK1/2-пути С-пептидом ведёт к фосфорилированию ряда факторов транскрипции, которые регулируют пролиферацию, рост и выживание клеток (рис. 2) [42].



201

Предполагают, что в условиях низкого уровня инсулина рецептор С-пептида связывается с $G_{i/o}$ -белками, что приводит к усилению активации связанных с инсулином сигнальных путей МАРК (включая активацию нижестоящего Akt). В условиях высокого уровня инсулина рецептор С-пептида связывается с $G_{q/11}$ -белками, что приводит к активации ПКС с последующим ослаблением каскадов передачи сигналов, связанных с инсулином [42].

При проведении эугликемического клэмп-теста (оценка инсулинорезистентности при сочетанной инфузии инсулина и глюкозы) введение С-пептида в концентрации 0,8 нМ пациентам СД1 сопровождалось увеличением утилизации глюкозы на 25% за счёт усиления захвата глюкозы мышцами или снижения глюконеогенеза в печени [43]. Совместное введение С-пептида с инъекционными формами инсулина существенно повышает эффективность инсулиновой терапии, что позволяет снизить дозу инсулина. Показано также, что интраназальное введение С-пептида усиливало стимулирующее действие инсулина на активность инсулиновой системы в гипоталамусе диабетических крыс [7].

С-пептид может оказывать влияние на липидный обмен, например, через стимулирование образования жирных кислот (ЖК) из глюкозы и превращение их в триацилглицериды для краткосрочного накопления в мышечных клетках. Роль инсулина, в отличие от С-пептида, заключается в регуляции транспорта ЖК в жировую ткань для их долгосрочного хранения [10].

Таким образом, между инсулином и С-пептидом наблюдается тесное пересечение сигнальных путей, что позволяет этим регуляторным молекулам, с одной стороны, функционально замещать друг друга и, с другой стороны, конкурировать между собой за регуляцию метаболических путей.

2. ФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ ЭФФЕКТЫ С-ПЕПТИДА

Многие исследователи показывают, что С-пептид оказывает положительный эффект на функции большого числа органов и тканей [1, 19, 44]. К таким тканям можно отнести почки, нервную систему, сердце, сосудистый эндотелий и микроциркуляцию крови (рис. 3).

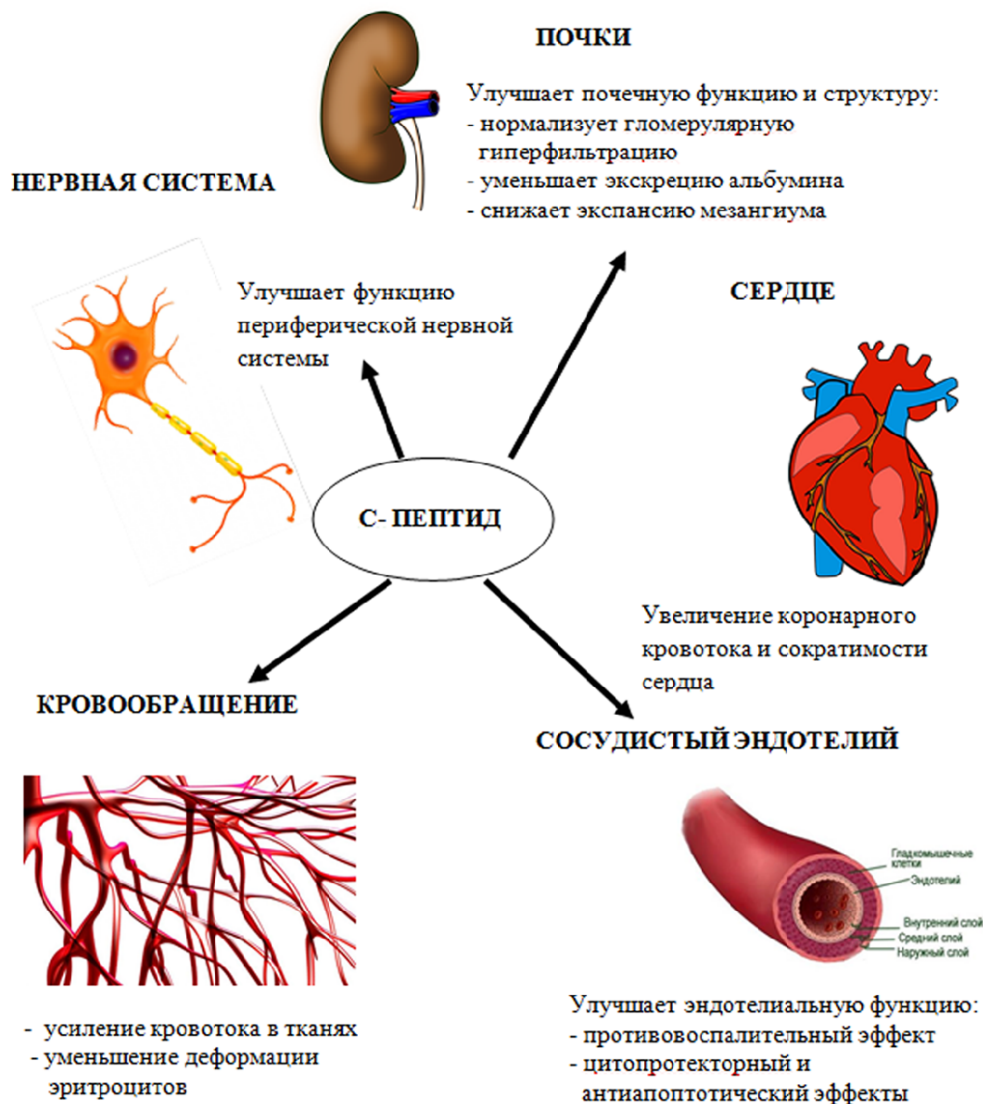


Рисунок 3. Физиологические эффекты С-пептида при СД (адаптировано из [20]).

2.1. С-пептид улучшает функцию почек

Диабетическая нефропатия (ДН) является одним из самых серьёзных осложнений СД, приводящих к ранней инвалидности и смерти больных от терминальной стадии почечной недостаточности. На начальной стадии ДН отмечается увеличение размера клубочков почек (гиперфункциональная гипертрофия), усиление почечного кровотока и увеличение скорости клубочковой фильтрации (СКФ), микроальбуминурия [3].

В свежеизолированных проксимальных канальцах диабетических крыс С-пептид уменьшал СКФ на 24% и не влиял на канальцы, предварительно обработанные уабаином. Таким образом, было установлено, что снижение гиперфильтрации происходило за счёт дилатации эфферентной артерии и ингибирования реабсорбции Na^+ в канальцах [45].

У крыс со STZ-индуцированным диабетом отмечена клубочковая гиперфильтрация и потеря белка с мочой. Кратковременное (90 мин) введение С-пептида сопровождалось уменьшением СКФ на 20%, а экскреция белка с мочой снижалась на 70% [46]. У диабетических крыс С-пептид в физиологической дозе в течение 14 дней почти полностью нормализовал СКФ, снижал экскрецию альбумина с мочой. Интересно, что С-пептид и каптоприл (ингибитор ангиотензинпревращающего фермента) были одинаково эффективны в снижении СКФ [47].

Гломерулярная гиперфильтрация в раннем периоде СД связана с увеличением СКФ из-за неадекватной вазодилатации афферентной артериолы [45]. Предполагают, что ключевую роль в увеличении СКФ играет NO. Оказалось, что С-пептид способен предотвращать увеличение почечной eNOS у крыс [48, 49]. Вероятно, в почках С-пептид уменьшает экскрецию СКФ и альбумина путём снижения уровня eNOS в афферентной клубочковой артериоле [45]. Эти эффекты при СД отличаются от наблюдаемых в условиях нормогликемии и представляют собой ингибирующее, а не стимулирующее влияние С-пептида на eNOS и Na^+/K^+ -АТФазу (как описано выше). Механизм, с помощью которого С-пептид опосредует этот эффект в почках, ещё предстоит выяснить. Примечательно, что почки здоровых животных не реагировали на С-пептид [12].

Изучение морфологии почечных клубочков показало, что у крыс с STZ-индуцированным диабетом на 65% увеличивался объём клубочкового мезангиального матрикса. Введение таким крысам замещающих доз С-пептида подкожно в течение 4 недель предотвращало увеличение матрикса [47]. Механизм подавления роста мезангия, возможно, связан с ингибирующим эффектом С-пептида на $\text{TGF-}\beta_1$ и $\text{TNF-}\alpha$ [50]. Исследования *in vitro* показали, что С-пептид снижал экспрессию профибротического цитокина $\text{TGF-}\beta_1$ и клубочковое накопление коллагена IV типа [51]. Кроме того, было показано, что С-пептид защищает от $\text{TNF-}\alpha$ -индуцированного апоптоза почечных клеток путём индукции через NF- κB генов выживания [50].

В клиническом исследовании лиц с СД1 было показано, что больные, у которых функция β -клеток полностью утрачивалась, а концентрация С-пептида была равна нулю, более склонны к развитию микрососудистых осложнений, в том числе ДН [20, 52]. Кроме того, трансплантация поджелудочной железы или островковых клеток пациентам с СД1 приводила к восстановлению концентрации эндогенного инсулина и С-пептида, что сопровождалось улучшением функции почек [53].

В двойном слепом рандомизированном исследовании больные СД1 с микроальбуминурией получали инсулин вместе с человеческим С-пептидом в дозе 600 нМ подкожно в течение трёх месяцев. Другая группа пациентов получала инсулин и плацебо. После окончания приема препаратов гликемический контроль незначительно улучшился в обеих группах. Однако в группе получающих С-пептид экскреция альбумина прогрессивно снижалась. В группе (инсулин+плацебо) альбуминурия имела тенденцию к увеличению. Авторы предполагают, что совместное применение инсулина и С-пептида в течение трёх месяцев может предотвращать начинающуюся нефропатию у больных СД1 за счёт снижения экскреции альбумина с мочой [54].

Кроме того, влияние С-пептида на функцию почек изучали с использованием модели недиабетической нефропатии. Исследования проводились на Dahl-чувствительных (SS/jr) крысах, которые являются моделью хронического заболевания почек. Пептид вводили подкожно в дозе 50 пМ на 1 кг веса в течение 4-х недель. Введение С-пептида первые две недели достоверно уменьшало как альбуминурию, так и протеинурию у крыс SS/jr, но не оказывало влияния через 4 недели, когда развивалась глубокая почечная недостаточность. У недиабетических животных С-пептид не оказывал влияние на уровень глюкозы, HbA1c в плазме крови или артериальное давление [55].

Обобщая данные о защитном влиянии С-пептида на функцию почек при ДН, можно отметить его основные положительные эффекты: снижение СКФ, протеинурии и альбуминурии, экспрессии коллагена подоцитами, уменьшение экспансии мезангиального матрикса и почечной гипертрофии. Кроме того, происходило улучшение функциональной активности почек за счёт активации Na^+/K^+ -АТФазы и eNOS в эфферентных артериолах и снижения апоптоза в проксимальных почечных канальцах. Причём, положительное влияние С-пептида на функцию почек осуществляется в ранние сроки развития ДН. Таким образом, С-пептид, обладая собственной биологической активностью, может быть использован как нефропротектор при СД [3, 56].

2.2. С-пептид ослабляет системный воспалительный ответ и апоптоз

Повышенный уровень глюкозы в эндотелиальных клетках запускает внутриклеточное образование конечных продуктов позднего гликирования, которые индуцируют выработку активных форм

кислорода (АФК), что в свою очередь вызывает воспалительный ответ [22].

С-пептид в физиологических концентрациях снижает образование АФК в эндотелиальных клетках у мышей со STZ-индуцированным диабетом. Этот эффект опосредован ингибированием NADPH-оксидазы, которая является основным источником генерации АФК в присутствии высокой концентрации глюкозы. NADPH-оксидаза представляет собой мультикомпонентный ферментный комплекс, включающий Rac1 (принадлежит к суперсемейству Ras малых GTP-связывающих белков). В эндотелиальных клетках Rac1 контролирует продукцию супероксидного радикала ($O_2^{\cdot-}$). Показано, что С-пептид, уменьшая транслокацию белка Rac1 к плазматической мембране, способен ингибировать активность фермента на 25%. Более того, С-пептид в дозе 1 нМ может снижать продукцию АФК через подавление активности проапоптотического фермента трансглутаминазы 2 [57].

В аорте мышей со STZ-индуцированным диабетом гипергликемия стимулировала трансглутаминазную активность и апоптоз, а заместительная терапия (35 пМ С-пептида на 1 кг веса) сдерживала развитие этих процессов [58]. С-пептид уменьшал апоптоз эндотелиальных клеток, снижая уровень и активность каспазы-3 и увеличивая синтез регулятора апоптоза Bcl-2, что было продемонстрировано также для клеток нейробластомы SH-SY5Y и β -клеток поджелудочной железы человека [57]. С-пептид в присутствии инсулина стимулировал экспрессию белка Bcl-2 в клетках нейробластомы SH-SY5Y человека, оказывая синергетический антиапоптотический эффект [59].

В условиях гипергликемии С-пептид оказывает цитопротекторное действие на сосудистые клетки путём снижения высоких концентраций провоспалительных цитокинов и хемокинов в плазме крови, вызванных глюкозой, в том числе интерлейкина-1 (IL-1), IL-6, IL-8, MIP-1a (макрофагальный воспалительный белок), MCP-1 (моноцитарный хемоаттрактантный протеин-1) и TNF- α . Эффект был продемонстрирован у самцов крыс в модели геморрагического шока *in vivo*. С-пептид снижал воспалительную реакцию в лёгких крыс путём изменения баланса между про- и противовоспалительной сигнализацией в лёгких [60]. Противовоспалительное действие С-пептида наблюдали в моноцитах с высоким содержанием глюкозы, которые являются основными источниками провоспалительных цитокинов в крови пациентов СД1 [61].

Плейотропный пептидный цитокин TNF- α вызывает широкий спектр клеточных ответов, включая пролиферацию, воспаление и гибель клеток. Связывание TNF- α с рецептором TNF-R1 может запускать апоптотические пути путём активации каскадов каспаз [16]. Инкубация клеток с высокой концентрацией TNF- α снижала жизнеспособность клеток проксимальных канальцев почки опоссума до 60% [16]. Показано, что циркулирующие уровни мочевого и почечного интерстициального ФНО- α увеличивались после

индукции диабета STZ, предшествуя увеличению экскреции альбумина с мочой [62]. Ингибирование TNF- α инфликсимабом (моноклональное антитело — ингибитор TNF- α) или FR-167653 (селективный ингибитор p38-MAPK) снижали экскрецию альбумина с мочой [63]. В клетках проксимальных канальцев почки опоссума С-пептид в физиологических низких концентрациях (5 нМ) предупреждал апоптоз, вызванный TNF- α [16]. Кроме того, С-пептид проявлял сильные антифибротические эффекты в проксимальных канальцах почки путём ингибирования TGF- β -1-индуцированного эпителиально-мезенхимального перехода [50].

Развитию сосудистых повреждений при СД предшествует адгезия циркулирующих лейкоцитов к эндотелиальным клеткам и их миграция в стенку сосуда. Используя прижизненную микроскопию брыжейки крысы, было продемонстрировано ингибирование взаимодействия лейкоцитов с эндотелием мезентериальных венул крыс под влиянием С-пептида. Перфузия сосудов брыжейки крысы в присутствии L-NAME (неселективный блокатор eNOS) приводила к значительному увеличению количества лейкоцитов, мигрирующих и прилипающих к стенке эндотелия. С-пептид ослаблял лейкоцитарно-эндотелиальные взаимодействия за счёт снижения экспрессии молекул клеточной адгезии на микрососудистом эндотелии и повышал уровень мРНК eNOS и концентрацию NO, тем самым предотвращая или ограничивая повреждение эндотелия. При этом скремблированный С-пептид подобного эффекта не оказывал [36]. С-пептид в физиологической концентрации (0,5 нМ) способен снижать экспрессию молекул клеточной адгезии ICAM-1 (Inter-Cellular Adhesion Molecule 1), VCAM-1 (Vascular cell adhesion molecule 1) и Е-селектина в клетках эндотелия аорты человека, инкубированных в присутствии высокой концентрации глюкозы (25 мМ) [22].

Таким образом, в эндотелиальных клетках С-пептид смягчает воспалительные реакции, вызванные гипергликемией, путём нормализации уровня провоспалительных цитокинов и хемокинов в плазме крови. С-пептид замедляет или предотвращает апоптоз путём ингибирования NADPH-оксидазы, снижения активности каспазы-3 и индукции Bcl-2. Кроме того, С-пептид ингибирует экспрессию молекул адгезии, что, в конечном итоге, снижает риск развития микрососудистых осложнений при СД.

2.3. С-пептид улучшает работу периферической нервной системы

Ранее было показано, что при экспериментальном диабете эндоневральный кровоток существенно снижается из-за ингибирования NO [64, 65]. Проявления дистальной полиневропатии в заднем большеберцовом нерве у диабетических крыс проявлялись на фоне снижения Na^+/K^+ -АТФазы в периферической нервной ткани, повышенной инактивации Na^+ -каналов внутриаксональным накоплением натрия, отёком и нарушением нервной проводимости [28].

Положительные эффекты С-пептида на функцию периферических нервов были продемонстрированы на крысах со спонтанным развитием СД1. Подкожное введение С-пептида в течение двух месяцев, начиная с первой недели после манифестации диабетической патологии, предотвращало торможение скорости проведения нервного импульса (СПНИ) на 60% по сравнению с контрольными животными. С-пептид также вызывал заметное увеличение СПНИ в случае, если лечение начиналось через 5 месяцев после начала диабета, когда невропатия уже была установлена. Концентрации С-пептида в этих исследованиях находились в диапазоне низких физиологических (0,5–0,7 нМ) значений [28]. Показано, что С-пептид предотвращал развитие структурных изменений нерва, таких как аксональная атрофия, паранодальная демиелинизация нервных волокон, способствуя регенерации нервных волокон [66].

Аналогичным образом действовал С-пептид у крыс со STZ-индуцированным СД. Чтобы оценить влияние пептида на нейроваскулярную дисфункцию, С-пептид вводили в течение 2 недель, начиная с 6 недели после индукции диабета. Он увеличивал СПНИ сенсорного (подкожного) и двигательного (седалищного) нервов на 80% и 60% соответственно. Кроме того, у диабетических крыс отмечено снижение седалищного кровотока и сосудистой проводимости, С-пептид частично (57–66%) скорректировал эти дефекты. Эффекты, вызванные С-пептидом на эндоневральный кровоток и СПНИ, ингибировались L-NNA (блокатор eNOS). Скремблированный (он же контрольный) С-пептид в этих условиях эффекта не оказывал [64].

Двойное слепое плацебо-контролируемое исследование у пациентов с СД1 и диабетической невропатией от лёгкой до умеренной степени тяжести показало, что введение С-пептида в течение 3 или 6 месяцев приводит к улучшению СПНИ сенсорных нервов и снижению порога восприятия вибрации (ПВВ). Тест ПВВ позволил выявить прогрессирующий дефицит чувствительности, часто считающийся признаком диабетической полинейропатии [67]. В настоящее время разработана модифицированная молекула человеческого С-пептида, которая ковалентно связана с полиэтиленгликолем (ПЭГ), при этом её биологический период полураспада достигает 6–7 дней. Длительное (1 год) однократное еженедельное подкожное введение комплекса ПЭГ-С-пептид больным СД1 значительно улучшало СПНИ (с 41,26 до 0,64 м/с) и другие электрофизиологические показатели, как в исследуемой группе, так и в группе “плацебо”. Однако снижение ПВВ на 31% наблюдали только в группе получавших С-пептид [68].

В целом, результаты показывают, что С-пептид в физиологических концентрациях улучшает функцию периферической нервной системы при СД1 посредством NO-чувствительного нейроваскулярного механизма или путём активации Na^+/K^+ -АТФазы, способствуя тем самым снижению задержки Na^+ и частичному устранению внутриаксонального отёка. Введение С-пептида животным с экспериментальным диабетом или пациентам с СД1 заметно увеличивало СПНИ или снижало ПВВ.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Экспериментальные и клинические исследования показали, что использование С-пептида в качестве средства монотерапии или совместно с инсулином при СД снижает степень функциональных и структурных нарушений почек, увеличивает кровоток в мышцах, коже и почках, устраняет структурные нарушения периферических нервов, увеличивает скорость нервной проводимости, повышает эффективность инсулиновой терапии. В экспериментах *in vitro* показано, что на фоне высокой концентрации глюкозы С-пептид снижает образование АФК, концентрацию провоспалительных цитокинов, экспрессию молекул клеточной адгезии, предотвращает апоптоз клеток.

Молекулярный механизм действия С-пептида связан с активацией внутриклеточных сигнальных путей. При взаимодействии со специфическим рецептором С-пептид вызывает внутриклеточную передачу сигналов через G_{10} -белки с привлечением ключевых компонентов трансдукции: фосфолипазы $\text{C}\beta$, ФИ-3-К, различных форм ПКС, MAPK, что приводит к активации и повышенной экспрессии eNOS, Na^+/K^+ -АТФазы и важных факторов транскрипции, участвующих во внутриклеточных защитных механизмах.

Следует отметить, что, несмотря на накопленный экспериментальный и клинический материал о положительных эффектах С-пептида, он до сих пор не вводится совместно с инсулином пациентам с СД в качестве терапевтического средства. Препятствием для внедрения С-пептида в клиническую практику, по мнению некоторых авторов, является недостаточная чистота препаратов С-пептида и противоречивые сведения о его биологических эффектах [69]. Так, имеются исследования, в которых показано, что повышенный уровень С-пептида может стимулировать пролиферацию сосудистых гладкомышечных клеток, индуцировать хемотаксическую активность, способствовать развитию бляшек и стенозированию сосудов у пациентов с инсулинорезистентностью и СД2 [70]. В связи с этим, важной задачей дальнейших исследований является разработка методов получения рекомбинантных аналогов биологически активного С-пептида и изучение его влияния на организм человека.

ФИНАНСИРОВАНИЕ

Проведение исследования и подготовка статьи выполнены в рамках программы фундаментальных научных исследований по теме НИР 0535-2019-0030.

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

Настоящая статья не содержит каких-либо исследований с участием людей или с использованием животных в качестве объектов.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Brandenburg D. (2008) Exper. Diabetes Res., **2008**, Article ID 576862, DOI: 10.1155/2008/576862.
2. Потеряева О.Н., Усынин И.Ф. (2019) Клин. лабор. диагн., **64**(7), 397-404. [Poteryaeva O.N., Usynin I.F. (2019) Clin. Labor. Diagn., **64**(7), 397-404.
3. Yarbeygi H., Maleki M., Sathyapalan T., Sahebkar A. (2019) Life Sci., **237**, 116950. DOI: 10.1016/j.lfs.2019.116950.
4. Wahren J., Larsson C. (2015) Diabetes Res. Clin. Pract., **107**(3), 309-319.
5. Landreh M., Johansen J., Wahren J., Jörnval H. (2014) Biomolecular Concepts, **5**(2), 109-118.
6. Шпаков А.О. (2015) Цитология, **57**(6), 405-414. [Shpakov A.O. (2015) Tsitologiya, **57**(6), 405-414].
7. Деркач К.В., Перминова А.А., Бузанаков Д.М., Шпаков А.О. (2019) Бюлл. экспер. биол. мед., **167**(3), 351-355. [Derkach K.V., Perminova A.A., Buzanakov D.M., Shpakov A.O. (2019) Bull. Exper. Biol. Med., **167**(3), 351-355.
8. Kubota M., Sato Y., Khoorkhor O., Ekberg K., Chibalin A.V., Wahren J. (2014) Diabetes Metab. Res. Rev., **30**(2), 124-131.
9. Brunskill N.J. (2017) JIM, **281**(1), 41-51.
10. Newsome C.L. (2015) Investigation into the biological importance and function of proinsulin C-peptide. Theses, Dissertations and Capstones, 958.
11. Bathgate R.A., Halls M.L., van der Westhuizen E.T., Callander G.E., Kocan M., Summers R.J. (2013) Physiol. Rev., **93**, 405-480.
12. Wahren J., Callas Å., Sima A.A.F. (2012) Diabetes, **61**(4), 761-772.
13. Wahren J., Shafqat J., Johansson J., Chibalin A., Ekberg K., Jörnval H. (2004) Exp. Diabetes Res., **5**(1), 15-23.
14. Шпаков А.О., Гранстрем О.К. (2013) Цитология, **55**(1), 16-27. [Shpakov A.O., Granstrem O.K. (2013) Tsitologiya, **55**(1), 16-27].
15. Шпаков А.О., Деркач К.В., Басова Н.Е. (2019) С-пептид проинсулина. ПОЛИТЕХ-ПРЕСС, Санкт-Петербург, 210 с. [Shpakov A.O., Derkach K.V., Basova N.E. (2019) C-Peptid Proinsulina. POLITEH-PRESS, Sankt-Peterburg, 210 p.] ISBN 978-5-7422-6720-1.
16. Al-Rasheed N.M., Willars G.B., Brunskill N.J. (2006) J. Am. Soc. Nephrol., **17**(4), 986-995.
17. Ткачук В.А., Воротников А.В. (2014) Сахарный диабет, №2, 29-40. [Tkachuk V.A., Vorotnikov A.V. (2014) Saharniy Diabet, №2, 29-40.
18. Yosten G.L.C., Kolar G.R., Redinger L.J., Samson W.K. (2013) J. Endocrinol., **218**(2), 986-995.
19. Шпаков А.О. (2017) Журн. эвол. биохим. и физиол., **53**(3), 161-168. [Shpakov A.O. (2017) Zhurn. Evol. Biohim. I Fiziol., **53**(3), 161-168].
20. Wahren J. (2016) J. Intern. Med., **281**(1), 3-6.
21. Lindahl E., Nyman U., Melles E., Sigmundsson K., Ståhlberg M., Wahren J., Öbrink B., Shafqat J., Joseph B., Jörnval H. (2007) Cell. Mol. Life Sci., **64**(4), 479-486.
22. Luppi P., Kallas A., Wahren J. (2013) Diabetes Metab. Res. Rev., **29**(5), 357-362.
23. Vague P., Coste T.C., Jannot M.F., Raccach D., Tsimaratos M. (2004) Exp. Diabetes Res., **5**(1), 37-50.
24. Ohtomo Y., Aperia A., Sahlgren B., Johansson B.L., Wahren J. (1996) Diabetologia, **39**(2), 199-205.
25. Kunt T., Schneider S., Pfützner A., Goitum K., Engelbach M., Schauf B., Beyer J., Forst T. (1999) Diabetologia, **42**(4), 465-471.
26. Hach T., Forst T., Kunt T., Ekberg K., Pfützner A., Wahren J. (2008) Exp. Diabetes Res., **2008**, Article ID: 730594, DOI: 10.1155/2008/730594.
27. Forst T., de la Tour D.D., Kunt T., Pfützner A., Goitum K., Pohlmann T., Schneider S., Johansson B.L., Wahren J., Löbig M., Engelbach M., Beyer J., Vague P. (2000) Clin. Sci. (Lond.), **98**(3), 283-290.
28. Sima A.A., Zhang W., Sugimoto K., Henry D., Li Z., Wahren J., Grunberger G. (2001) Diabetologia, **44**(7), 889-897.
29. Fiorina P., Folli F., Zerbini G., Maffi P., Gremizzi C., Di Carlo V., Bertuzzi F., Kashgarian M., Secchi A. (2003) J. Am. Soc. Nephrol., **14**(8), 2150-2158.
30. Wallerath T., Kunt T., Forst T., Closs E.L., Lehmann R., Flohr T., Gabriel M., Schäfer D., Göpfert A., Pfützner A., Beyer J., Förstermann U. (2003) Nitric Oxide, **9**(2), 95-102.
31. Zhong Z., Davidescu A., Ehren I., Ekberg K., Jörnval H., Wahren J., Chibalin A.V. (2005) Diabetologia, **48**(1), 187-197.
32. Kitamura T., Kimura K., Jung B.D., Makondo K., Okamoto S., Canas X., Sakane N., Yoshida T., Saito M. (2001) Biochem. J., **355**(Pt1), 123-129.
33. Kitamura T., Kimura K., Jung B.D., Makondo K., Sakane N., Yoshida T., Saito M. (2002) Biochem. J., **366**(Pt3), 737-744.
34. Grunberger G., Qiang X., Li Z., Mathews S.T., Sbrissa D., Shisheva A., Sima A.A. (2001) Diabetologia, **44** (10), 1247-1257.
35. Al-Rasheed N.M., Chana R.S., Baines R.J., Willars G.B., Brunskill N.J. (2004) J. Biol. Chem., **279**(48), 49747-49754.
36. Scalia R., Coyle K.M., Levine B.J., Booth G., Lefer A.M. (2000) FASEB J., **14**(14), 2357-2364.
37. Kitamura T., Kimura K., Makondo K., Furuya D.T., Suzuki M., Yoshida T., Saito M. (2003) Diabetologia, **46**(12), 1698-1705.
38. Li L., Oshida Y., Kusunoki M., Yamanouchi K., Johansson B.L., Wahren J., Sato Y. (1999) Diabetologia, **42**(8), 958-964.
39. Yang S.H., Sharrocks A.D., Whitmarsh A.J. (2013) Gene, **513**(1), 1-13.
40. Расин М.С., Борзых О.А. (2013) Нефрология, **17**(4), 44-48. [Rasin M.S., Borzykh O.A. (2013) Nefrologiya, **17**(4), 44-48].
41. Seda O., Kazdova L., Krenova D., Kren V. (2003) Physiol. Genomic, **12**(2), 73-78.
42. Yosten G.L.C., Kolar G.R. (2015) Physiology, **30**(4), 327-332.
43. Wilhelm B., Kann P., Pfützner A. (2008) Exp. Diabetes Res., Article ID 769483, DOI: 10.1155/2008/769483.
44. Шпаков А.О., Гранстрем О.К. (2013) Российский Физиологический журнал им. И.М. Сеченова, **99**(2), 196-211. [Shpakov A.O., Granstrem O.K. (2013) Rossiiskii Fiziologicheskii Jurnal im. I.M. Sechenova, **99**(2), 196-211].
45. Nordquist L., Brown R., Fasching A., Persson P., Palm F. (2009) Am. J. Physiol. Renal. Physiol., **297**(5), F1265-F1272.
46. Sjöquist M., Huang W., Johansson B.L. (1998) Kidney Int., **54**(3), 758-764.
47. Samnegård B., Jacobson S.H., Jaremko G., Johansson B.L., Ekberg K., Isaksson B., Eriksson L., Wahren J., Sjöquist M. (2005) Nephrol. Dial. Transplant., **20**(3), 532-538.
48. Hohenstein B., Hugo C.P., Hausknecht B., Boehmer K.P., Riess R.H., Schmieder R.E. (2008) Nephrol. Dial. Transplant., **23**(4), 1346-1354.
49. Kamikawa A., Ishii T., Shimada K., Makondo K., Inanami O., Sakane N., Yoshida T., Saito M., Kimura K. (2008) Diabetes Metab. Res. Rev., **24**(4), 331-338.
50. Hills C.E., Al-Rasheed N., Al-Rasheed N., Willars G.B., Brunskill N.J. (2009) Am. J. Physiol. Renal. Physiol., **296**(3), F614-F621.
51. Maezawa Y., Yokote K., Sonezaki K., Fujimoto M., Kobayashi K., Kawamura H., Tokuyama T., Takemoto M., Ueda S., Kuwaki T., Mori S., Wahren J., Saito Y. (2006) Diabetes Metab. Res. Rev., **22**(4), 313-322.
52. Panero F., Novelli G., Zucco C., Fornengo P., Perotto M., Serge O., Grassi G., Cavallo-Perin P., Bruno G. (2009) v Diabetes Care, **32**(2), 301-305.

53. Boggi U., Rosati C.M., Marchetti P. (2013) *Curr. Opin. Organ Transplant.*, **18**(1), 102-110.
54. Johansson B.L., Borg K., Fernqvist-Forbes E., Kernell A., Odergren T., Wahren J. (2000) *Diabet. Med.*, **17**(3), 181-189.
55. Sawyer R., Flynn E., Hutchens Z., Williams J., Garrett M., Maric-Bilkan C. (2012) *Am. J. Physiol. Renal. Physiol.*, **303**(6), F893-F899.
56. Shaw J.A., Shetty P., Burns K.D., Fergusson D., Knoll G.A. (2015) *PLoS ONE*, **10**(5), e0127439. DOI: 10.1371/journal.pone.0127439.
57. Cifarelli V., Geng X., Styche A., Lakomy M., Trucco M., Luppi P. (2011) *Diabetologia*, **54**(10), 2702-2712.
58. Bhatt M.P., Lim Y.C., Hwang J., Na S., Kim Y.M., Ha K.S. (2013) *Diabetes*, **62**(1), 243-253.
59. Li Z.G., Zhang W., Sima A.A. (2003) *Diabetes Metab. Res. Rev.*, **19**(5), 375-385.
60. Chima R.S., LaMontagne T., Piraino G., Hake P.W., Denenberg A., Zingarelli B. (2011) *Lung Cell. Mol. Physiol.*, **300**(5), L730-L739.
61. Haidet J., Cifarelli V., Trucco M., Luppi P. (2012) *Inflamm. Res.*, **61**(1), 27-35.
62. Kalantarina K., Awad A.S., Siragy H.M. (2003) *Kidney Int.*, **64**(4), 1208-1213.
63. Moriwaki Y., Inokuchi T., Yamamoto A., Ka T., Tsutsumi Z., Takahashi S., Yamamoto T. (2007) *Acta Diabetol.*, **44**(4), 215-218.
64. Cotter M.A., Ekberg K., Wahren J., Cameron N.E. (2003) *Diabetes*, **52**(7), 1812-1817.
65. Stevens M.J., Zhang W., Li F., Sima A.A. (2004) *Am J. Physiol. Endocrinol. Metab.*, **287**(3), E497-E505.
66. Zhang W., Kamly H., Ekberg K., Wahren J., Sima A.A. (2007) *Diabetes Metab. Res. Rev.*, **23**(1), 63-70.
67. Ekberg K., Brismar T., Johansson B.L., Lindstrom P., Juntti-Berggren L., Norrby A. (2007) *Diabetes Care*, **30**(1), 71-76.
68. Wahren J., Foyt H., Daniels M., Arezzo J.C. (2016) *Diabetes Care*, **39**(4), 596-602.
69. Pinger C.W., Entwistle K.E., Bell T.M., Liu Y., Spence D.M. (2017) *Mol. Biosyst.*, **13**(8), 1432-1437.
70. Walcher D., Babiak C., Poletsek P., Rosenkranz S., Bach H., Betz S., Durst R., Grub M., Hombach V., Strong J., Marx N. (2006) *Circ. Res.*, **99**(11), 1181-1187.

Поступила в редакцию: 22. 11. 2019.
После доработки: 20. 04. 2020.
Принята к печати: 29. 04. 2020.

MOLECULAR MECHANISMS OF ACTION AND PHYSIOLOGICAL EFFECTS OF THE PROINSULIN C-PEPTIDE (A SYSTEMATIC REVIEW)

O.N. Poteryaeva*, I.F. Usynin

Institute of Biochemistry, Federal Research Center of Fundamental and Translation Medicine,
2 Timakova str., Novosibirsk, 630117 Russia; e-mail: olga_Poteryaeva@mail.ru

The C-peptide is a fragment of proinsulin, the cleavage of which forms active insulin. In recent years, new information has appeared on the physiological effects of the C-peptide, indicating its positive effect on many organs and tissues, including the kidneys, nervous system, heart, vascular endothelium and blood microcirculation. Studies on experimental models of diabetes mellitus in animals, as well as clinical trials in patients with diabetes, have shown that the C-peptide has an important regulatory effect on the early stages of functional and structural disorders caused by this disease. The C-peptide exhibits its effects through binding to a specific receptor on the cell membrane and activation of downstream signaling pathways. Intracellular signaling involves G-proteins and Ca²⁺-dependent pathways, resulting in activation and increased expression of endothelial nitric oxide synthase, Na⁺/K⁺-ATPase and important transcription factors involved in apoptosis, anti-inflammatory and other intracellular defense mechanisms. This review gives an idea of the C-peptide as a bioactive endogenous peptide that has its own biological activity and therapeutic potential.

Key words: C-peptide; mechanism of action; diabetic neuropathy, neuropathy; apoptosis; review

Funding. The research work and paper preparation implemented as part of a fundamental scientific research program # 0535-2019-0030.

Received: 22.11.2019, revised: 20.04.2020, accepted: 29.04.2020.