

І. В. Кізуб, К. І. Клименко, А. І. Соловйов

Участь протеїнкінази С у механізмах порушення судинного тонусу за умов цукрового діабету. Частина 1.

ДУ «Інститут фармакології та токсикології НАМН України», м. Київ

Ключові слова: цукровий діабет, ендотелій, гіперглікемія, протеїнкіназа С, реактивні форми кисню, судинний тонус, гладенькі м'язи судин

Цукровий діабет (ЦД) є тяжким комплексним синдромом, основними компонентами якого є гіперглікемія та метаболічні зміни. Частота захворюваності на ЦД у світі зростає з великою швидкістю і може сягнути 400 млн осіб, хворих на ЦД (близько 4,4 % населення планети), у наступні 20 років [1]. Близько 5–10 % хворих на ЦД страждають на автоімунний інсулін-залежний діабет 1-го типу, тоді як 90–95 % хворих мають інсулін-незалежний ЦД 2-го типу [1]. ЦД 2-го типу зазвичай виникає на тлі серцево-судинних факторів ризику, зокрема, ожиріння, артеріальної гіпертензії, високого рівня тригліцеридів, холестеролу та ліпопротеїдів високої щільності, а також зміненого складу ліпопротеїдів низької щільності, гіперінсулінемії, інсулінорезистивності та хронічного запалення [1]. Довготривалі ефекти ЦД позначаються на багатьох системах органів та пов'язані з комплексом патологічних, клітинних та субклітинних змін.

ЦД призводить до чисельних дисфункцій, у тому числі серцево-судинних, що є одними з головних чинників смертності та інвалідазації населення [2]. Це величезна проблема охорони здоров'я, оскільки обидва типи ЦД пов'язані з розвитком серцево-судинних захворювань, які призводять до майже 80 % смертності серед пацієнтів із ЦД [3]. Макроциркуляторні ускладнення за умов ЦД включають ангіопатію, атеросклероз, кальцифікацію судинної стінки та артеріальну гіпертензію, що спостерігається, зокрема, у

коронарних та сонних артеріях [4], судинах мозку [5] та великих периферичних артеріях нижніх кінцівок [5]. Мікросудинні ускладнення за ЦД включають ретинопатію [6], нефропатію [7] та периферичну нейропатію [8]. Зміни кровотоку та порушення судинної реактивності за умов ЦД широко відомі, і результати багатьох досліджень показують, що ендотеліальна дисфункція та порушення в роботі гладеньких м'язів має місце в різноманітних судинних регіонах як на моделях тварин, так і в пацієнтів із ЦД [9].

Вважається, що гіперглікемія є ключовим фактором, що відповідає за розвиток діабетичних судинних ускладнень [2]. Встановлено, що до розвитку судинних дисфункцій за умов ЦД залучено декілька пов'язаних із гіперглікемією механізмів. Вони включають оксидативний стрес [10], поліольний шлях [11, 12], підвищене утворення кінцевих продуктів глікації (КПГ) [13, 14], підвищене шунтування надлишкової глюкози гексозамінним шляхом [12] та активацію шляхів, що опосередковуються С-мітоген-активованими протеїнкіназами (МАПК) та протеїнкіназою С (ПКС) [15, 16]. Підвищений рівень вільних жирних кислот залучений до розвитку ускладнень ЦД [16]. Оксидативний стрес також вважається ключовим фактором у розвитку судинних діабетичних ускладнень [10]. До розвитку оксидативного стресу за умов ЦД призводить дисбаланс між підвищеним утворенням реактивних форм кисню (РФК) та зниженням активності антиоксидантної захисної системи [10].

ПКС є регуляторним ферментом, що відіграє важливу роль у передачі сигналів, залучених до регуляції багатьох судинних функцій, таких як проникність клітин судинної стінки, синтез

позаклітинного матриксу, клітинний ріст, активація цитокінів, ангиогенез та регуляція судинного тонуру [17, 18]. Показано, що дисфункція всіх цих систем має місце за діабетичних умов та залучає ПКС-опосередковані механізми, як важливу ланку в патогенезі діабетичних мікро- [18] та макроангіопатій [16].

ПКС являє собою родину серин/треонін кіназ, що включає як мінімум 10 членів [19]. Вони каталізують реакцію фосфорилування та опосередковують величезну кількість сигнальних шляхів в еукаріотичних клітинах [19]. На основі гомології та чутливості до різноманітних активаторів, ізоформи ПКС поділяють на три підродини: класичні (classical, сПКС), нові (novel, нПКС) та атипові (atypical, аПКС) [19]. Класичні ізоформи ПКС складають ПКС- α , ПКС- β 1, ПКС- β 2 та ПКС- γ [20]. Цей підтип ПКС потребує для своєї активації діацилгліцерол (ДАГ) або форболові ефіри, іони Ca^{2+} та фосфатидилсерин (ФС) [20]. Підродина нових ПКС складається із ПКС- δ , ПКС- ϵ , ПКС- η / λ (або ПКС L) та ПКС- θ , які потребують для активації ДАГ та ФС, але залишаються нечутливими до Ca^{2+} [21]. Атипові ізоформи ПКС включають в себе ПКС- ζ та ПКС- ι / λ , які потребують лише ФС та деякі інші ліпідні медіатори для своєї активації [19, 20]. У неактивному стані ПКС локалізовані, головним чином, у цитозольній фракції, й їхня транслокація до плазматичної мембрани клітини є ознакою активації [19]. Слід також зауважити, що ізоформи ПКС- μ та ПКС- ν зараз класифікуються як члени родини ДАГ-рецептор протеїнкіназ D (ПКД), які є серин/треонін кіназами надродини Ca^{2+} /кальмодулін-залежних кіназ [22]. Велика кількість ізоформ ПКС ($-\alpha$, $-\beta$ 1, $-\beta$ 2, $-\gamma$, $-\epsilon$, $-\eta$, $-\zeta$, $-\delta$, та $-\iota$ / λ) експресується в судинних тканинах залежно від виду тварин, а також типу та віку судин [16, 20]. Було показано, що за умов ЦД у гладеньком'язових клітинах (ГМК) та ендотеліоцитах різноманітних судинних регіонів активуються або гіперекспресуються ізоформи ПКС- α [11, 23, 25], ПКС- β 1 [11], ПКС- β 2 [11, 23, 24], ПКС- γ , ПКС- ϵ [11, 23], ПКС- ζ та ПКС- δ [11, 23, 25, 26].

Не дивлячись на існування достатньої кількості оглядів, що присвячені участі ПКС у діабетичних судинних ускладненнях, комплексна роль ПКС у механізмах зростання судинного тонуру за умов ЦД досі не була висвітлена належним чином. Тому представлений огляд ми сфокусували виключно на механізмах залучення ПКС до порушень судинного тонуру за умов ЦД.

Механізми активації ПКС у тканинах судинної стінки за умов ЦД

РФК-опосередкована активація ПКС за умов ЦД. У цьому розділі розглядатимуться механізми активації ПКС у тканинах судинної стінки під дією гіперглікемії. Багато досліджень показали, що гіперглікемія за умов ЦД викликає збільшення реактивних форм кисню (РФК) та пов'язаний із цим оксидативний стрес, що є активатором ПКС [12]. З іншого боку, зворотним ефектом активації ПКС є подальше посилення утворення РФК та оксидативного стресу [15, 27]. Члени родини ПКС є високочутливими до оксидативного стресу [19]. Відомо, що РФК викликають внутрішньоклітинну транслокацію та активацію багатьох ізоформ ПКС у судинних тканинах [19]. Відомо, що як ендотеліальні клітини, так і ГМК, здатні продукувати РФК за рахунок багатьох ферментативних джерел [28].

За нормальних умов окисно-відновний стан клітин судинної стінки контролюється антиоксидантними ферментами та глутатіонним буфером [28]. Однак за діабетичних умов, коли цей баланс зміщується в бік окиснення (оксидативний стрес), це призводить до дисрегуляції сигнальних шляхів у ГМК та ендотелії [29–31]. У тканинах судинної стінки РФК виступають у ролі важливого вторинного посередника та здатні опосередковувати багато клітинних відповідей, у тому числі регуляцію скоротливості ГМК, а також проникність та функції ендотелію [28].

Первинною РФК, що продукується більшістю оксидоредуктаз є супероксид-аніон (O_2^-), який утворюється внаслідок неповного відновлення молекулярного кисню [28]. У тканинах судинної

стілки O_2^- генерується декількома ферментами, зокрема, такими як нікотинамідаденіндинуклеотидфосфатоксидаза (НАДФН-оксидаза або НОК) [32, 33], циклооксигеназа (ЦОГ) [34], альдегідоксидаза (АО) [9], ксантиоксидаза (КО) [35], глюкозооксидаза (ГО) [9], роз'єднана ендотеліальна NO-синтаза (eNOC) [32] та мітохондріальний електронно-транспортний ланцюг (ЕТЛ) [28, 33]. Після цього O_2^- перетворюється на більш стабільний перекис водню (H_2O_2) за участю Mn-супероксид дисмутази (Mn-SOD або СОД2) та Cu-Zn-SOD (СОД1) [28]. У подальшому H_2O_2 може бути перетворений на гідроксил-радикал (ОН \cdot) із менш виразними сигнальними властивостями ніж супероксид-аніон або H_2O_2 [5, 28]. В ендотеліальних клітинах H_2O_2 також може взаємодіяти з оксидом азоту II (NO) з утворенням іншої високоактивної РФК – пероксинітриду (ONOO \cdot) [5].

Встановлено, що РФК, які походять із мітохондрій, відіграють важливу сигнальну роль у судинних тканинах за умов ЦД [12, 33, 36]. Зокрема, залучення ЕТЛ до підвищеного утворення РФК за діабетичних умов було показано в ендотеліоцитах [37]. Відповідно до уніфікованої гіпотези, ініційоване гіперглікемією збільшення вмісту донорів електронів, що надходять із циклу трикарбонових кислот, призводить до зростання високого потенціалу на внутрішній мембрані мітохондрій унаслідок прокачування через неї протонів [28]. Це призводить до пригнічення електронного транспорту, головним чином, у комплексах I ЕТЛ (НАДН-дегідрогеназа) та III (убіхінон-цитохром-с-оксидоредуктаза) [28]. Коензим-Q (убіхінон) стає відновленим, що призводить до витоку електронів на шляху від коензіма-Q до O_2 , із утворенням O_2^- та, потім, H_2O_2 за участю СОД2, розташованій у матриксі мітохондрій, та СОД1, що локалізована в міжмембранному мітохондріальному просторі [10, 37]. Хоча показано, що комплекси ЕТЛ I та III є найвідповідальнішими за утворення O_2^- [28], порушення роботи в комплексах II та IV також може призводити до витоку електронів та зростання утворення

РФК [33]. Мітохондріальне утворення O_2^- також викликає внутрішньоклітинне зростання концентрації КПП [37], підвищує активність інших джерел РФК, таких як НОК, КО, а також викликає роз'єднання eNOC [38].

Багато досліджень свідчать про те, що НОК є одним з головних джерел РФК у тканинах судинної стінки за умов ЦД [32, 39–41]. НОК здатна модулювати активність ПКС, зокрема ПКС- β , яка виявляє високу чутливість до оксидантів, що походять із НОК [42]. Уважається, що НОК є ключовим цитозольним джерелом оксидативного стресу в різноманітних типах клітин за діабетичних умов та генерує супероксид-аніон шляхом перенесення електронів від НАДФН до молекулярного кисню [27, 39, 43]. Важливість НОК як джерела РФК було показано як для судинних ГМК за умов ЦД [44], так і для ендотеліоцитів, де НОК2 та НОК4 є найрозповсюдженішими підтипами [15, 39, 40]. Підвищена активність НОК була показана в артеріях та венах пацієнтів з ЦД [32]. Важливо зауважити, що нещодавно НОК4 було ідентифіковано як субодиночку IV мітохондріальної цитохром-с-оксидази [45]. Зростання активності НОК за умов гіперглікемії може бути опосередковане КПП через їхні специфічні рецептори (РКПП), що викликає зростання експресії субодиночки НОК gp91 [41, 46, 47]. З іншого боку, гіперглікемія може спричиняти зростання експресії НОК, як це показано для ендотеліоцитів та судинних ГМК [15, 32, 39, 40, 44]. Утворення супероксид-аніону за участю НОК є важливим не лише як джерело РФК, але й тому, що воно може підсилювати утворення O_2^- іншими джерелами, такими як КО та eNOC [48].

Роз'єднана eNOC також відіграє роль у формуванні РФК за умов ЦД [32, 49, 50]. eNOC є кальцій-залежним флавопротеїном, який каталізує окиснення L-аргініну з утворенням NO [51]. Цей фермент містить НАДФН, і коли окиснення НАДФН роз'єднується із окисненням L-аргініну, електрони спрямовуються від флавінів до молекулярного кисню з утворенням O_2^- [51]. Загальною причиною роз'єднання eNOC є

зниження рівню кофактора eNOC тетрагідробіоптерину (BH4) [40, 49, 50, 52]. Гіперглікемія викликає зниження рівня BH4 та роз'єднання редуктазної та оксигеназної зон субодиноць eNOC [49]. У такому стані eNOC починає переносити електрони до молекулярного кисню замість L-аргініну, наслідком чого є зниження утворення NO та зростання утворення O₂⁻ із наступним формуванням ONOO⁻ [40, 52]. Зростання рівня ONOO⁻ призводить до подальшого окиснення BH4 до тригідробіоптерину (BH3⁻) та хіноноїд-6,7-[8H]-N₂-біоптерину (BH2) [53]. Підвищення експресії eNOC у цьому випадку ще більше погіршує ситуацію [53]. З іншого боку, викликане гіперглікемією руйнування цинк-тіолатного комплексу eNOC, S-глутатіонілювання та нестача L-аргініну також сприяють роз'єднанню eNOC [54–56].

Деякі дослідження свідчать про те, що КО також бере участь у формуванні оксидативного стресу в судинних тканинах за діабетичних умов [35, 57], і рівень її в стінці діабетичних судин є підвищеним [57]. Головним джерелом КО є печінка [58]. Спочатку печінка синтезує ксантиндегідрогеназу, яка потім перетворюється на КО шляхом

протеолізу. Вивільнення КО із печінки підвищується за умов гіперхолестеролемії, і циркулююча в крові КО може з часом адгезуватися на поверхні ендотеліальних клітин [59]. Відомо також, що ендотеліоцити можуть експресувати власну ксантиндегідрогеназу [58]. Альдегідоксидаза утворює РФК із альдегіда і також може відігравати роль у судинних діабетичних ускладненнях [9, 60]. За ЦД перекисне окиснення ліпідів та глікація протеїнів є звичайним явищем, і альдегіди є субстратом як для АО, так і для КО [9]. ГО опосередковує окиснення глюкози, що призводить до утворення вільних радикалів і формування оксидативного стресу за умов ЦД [9].

Таким чином, результати багаточисельних досліджень свідчать про те, що ЦД викликає зростання активності важливого регуляторного ферменту ПКС у тканинах стінки кровоносних судин. Важливим фактором, що призводить до активації ПКС за даних умов, є викликаний гіперглікемією оксидативний стрес. Він виникає внаслідок зростання утворення РФК, джерлом яких виступають мітохондріальний ЕТЛ, різноманітні оксигенази та роз'єднана eNOC.

1. *Zimmet P. Z.* The growing pandemic of type 2 diabetes: a crucial need for prevention and improved detection / P. Z. Zimmet // *Medicographia* – 2011. – V. 33, № 1. – P. 15–21.
2. *Madonna R.* Cellular and molecular mechanisms of vascular injury in diabetes - part I: pathways of vascular disease in diabetes / R. Madonna, R. De Caterina // *Vasc. Pharmacol.* – 2011. – V. 54. – P. 68–74.
3. *Winer N.* Epidemiology of diabetes / N. Winer, J. R. Sowers // *J. Clin. Pharmacol.* – 2004. – V. 44. – P. 397–405.
4. Impaired coronary endothelium-dependent vasodilation is associated with microalbuminuria in patients with type 2 diabetes and angiographically normal coronary arteries / Cosson E., Pham I., Valensi P. [et al.] // *Diabetes Care.* – 2006. – V. 29, № 1. – P. 107–112.
5. *Funk S. D.* Hyperglycemia and endothelial dysfunction in atherosclerosis: lessons from type 1 diabetes / S. D. Funk, A. Y. Jr, A.W. Orr // *International Journal of Vascular Medicine.* – 2012. – V. 2012. – P. 1–19.
6. *Rosberger D. F.* Diabetic retinopathy. Current concepts and emerging therapy / D. F. Rosberger // *Endocrinol. Metab. Clin. N. Am.* – 2013. – V. 42. – P. 721–745.
7. *Arora M. K.* Molecular mechanisms in the pathogenesis of diabetic nephropathy: An update / M. K. Arora, U. K. Singh // *Vasc. Pharmacol.* – 2013. – V. 58. – P. 259–71.
8. *Behnam-Rassouli M.* Microvascular complications of diabetes / Behnam-Rassouli M., Ghayour M. B., Ghayour N. // *J. Biol. Sci.* – 2010. – V. 10. – P. 411–423.
9. *Kolluru G. K.* Endothelial dysfunction and diabetes: effects on angiogenesis, vascular remodeling, and wound healing / G. K. Kolluru, S.C. Bir, C. G. Kevil // *Int. J. Vasc. Med.* – 2012. – V. 2012. – P. 1–30.
10. *Schaffer S. W.* Role of oxidative stress in diabetes-mediated vascular dysfunction: Unifying hypothesis of diabetes revisited / S. W. Schaffer, C. J. Jong, M. Mozaffari // *Vasc. Pharmacol.* – 2012. – V. 57, № 5–6. – P. 139–149.
11. Requirement of aldose reductase for the hyperglycemic activation of protein kinase C and formation of diacylglycerol in vascular smooth muscle cells / Ramana K. V., Friedrich B., Tammali R. [et al.] // *Diabetes.* – 2005. – V. 54. – P. 818–829.

12. *Giacco F.* Oxidative stress and diabetic complications / F. Giacco, M. Brownlee // *Circ. Res.* – 2010. – V. 107, № 9. – P. 1058–1070.
13. Hyperglycaemia-induced impairment of endothelium dependent vasorelaxation in rat mesenteric arteries is mediated by intracellular methylglyoxal levels in a pathway dependent on oxidative stress / Brouwers O., Niessen P. M., Haenen G. [et al.] // *Diabetologia.* – 2010. – V. 53. – P. 989–1000.
14. *Vlassara H.* Advanced glycation endproducts in diabetes and diabetic complications / H. Vlassara, G. E. Striker // *Endocrinol. Metab. Clin. N. Am.* – 2013. – V. 42. – P. 697–719.
15. High glucose level and free fatty acid stimulate reactive oxygen species production through protein kinase C-dependent activation of NAD(P)H oxidase in cultured vascular cells / Inoguchi T., Li P., Umeda F. [et al.] // *Diabetes.* – 2000. – V. 49. – P. 1939–1945.
16. *Geraldes P.* Activation of protein kinase C isoforms and its impact on diabetic complications / P. Geraldes, G. L. King // *Circulation Research.* – 2010. – V. 106. – P. 1319–1331.
17. *Somlyo A. P.* Ca²⁺ sensitivity of smooth muscle and nonmuscle myosin II: Modulated by G proteins, kinases, and myosin phosphatase / A. P. Somlyo, A. V. Somlyo // *Physiol. Rev.* – 2003. – V. 83. – P. 1325–1358.
18. *Clarke M.* PKC inhibition and diabetic microvascular complications / M. Clarke, P. M. Dodson // *Best Pract. Res. Clin. Endocrinol. Metab.* – 2007. – V. 21, № 4. – P. 573–586.
19. *Cosentino-Gomes D.* Cell signaling through protein kinase C oxidation and activation / D. Cosentino-Gomes, N. Rocco-Machado, J.R. Meyer-Fernandes // *Int. J. Mol. Sci.* – 2012. – V. 13. – P. 10697–10721.
20. *Steinberg S. F.* Structural basis of protein kinase C isoform function / S. F. Steinberg // *Physiol. Rev.* – 2008. – V. 88. – P. 1341–1378.
21. *Duquesnes N.* PKC-delta and PKC-epsilon: Foes of the same family or strangers? / N. Duquesnes, F. Lezoualc'h, B. Crozatier // *J. Mol. Cell. Cardiol.* – 2011. – V. 51. – P. 665–673.
22. *Wang Q. J.* PKD at the crossroads of DAG and PKC signaling / Q. J. Wang // *Trends Pharmacol. Sci.* – 2006. – V. 27. – P. 317–323.
23. Differential expression of protein kinase C isoforms in streptozotocin induced diabetic rats / N. Kang, G. Alexander, J. K. Park [et al.] // *Kidney International.* – 1999. – V. 56, № 5. – P. 1737–1750.
24. Preferential elevation of protein kinase C isoform beta II and diacylglycerol levels in the aorta and heart of diabetic rats: differential reversibility to glycemic control by islet cell transplantation / Inoguchi T., Battan R., Handler E. [et al.] // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* – 1992. – V. 89. – P. 11059–11063.
25. Вплив сайленсингу генів α та δ ізоформ протеїнкінази C на йонну каналопатію та ендотеліальну дисфункцію аорти діабетичних щурів / К. І. Клименко, Т. В. Новохацька, І. В. Кізуб [та ін.] // *Фармакологія та лікарська токсикологія.* – 2013. – Т. 35, № 4–5. – С. 53–59.
26. PKC- δ isozyme gene silencing restores vascular function in diabetic rat / Klymenko K. I., Novokhatska T. V., Kizub I. V. [et al.] // *J. Basic. Clin. Physiol. Pharmacol.* – 2014 (in press).
27. *Gao L.* Vascular NAD(P)H oxidase activation in diabetes: a double-edged sword in redox signalling / L. Gao, G. E. Mann. // *Cardiovasc. Res.* – 2009. – V. 82. – P. 9–20.
28. *Knock G. A.* Redox regulation of protein kinases as a modulator of vascular function / G. A. Knock, J. P. T. Ward // *Antiox. Redox Signal.* – 2011. – V. 15, № 6. – P. 1531–1547.
29. *Leo C. H.* 39,49-Dihydroxyflavonol reduces superoxide and improves nitric oxide function in diabetic rat mesenteric arteries / Leo C. H., Hart J. L., Woodman O. L. // *PLoS One.* – 2011. – V. 6, № 6. – P. e20813.
30. Effects of the superoxide dismutase mimetic tempol on impaired endothelium-dependent and endothelium-independent relaxations in type II diabetic rats / Oniki H., Goto K., Fujii K. [et al.] // *Clin. Exp. Hypertens.* – 2012. – V. 35, № 2. – P. 112–119.
31. Exacerbation of endothelial dysfunction during the progression of diabetes: role of oxidative stress / Huang A., Yang Y. M., Feher A. [et al.] // *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Compar. Physiol.* – 2012. – V. 302, № 6. – P. R674–R681.
32. Mechanisms of increased vascular superoxide production in human diabetes mellitus: role of NAD(P)H oxidase and endothelial nitric oxide synthase / Guzik T. J., Mussa S., Gastaldi D. [et al.] // *Circulation.* – 2002. – V. 105. – P. 1656–1662.
33. *Shen G. X.* Oxidative stress and diabetic cardiovascular disorders: roles of mitochondria and NADPH oxidase / G. X. Shen // *Can. J. Physiol. Pharmacol.* – 2010. – V. 88. – P. 241–248.
34. Impaired nitric oxidemediated vasodilation in patients with non-insulin-dependent diabetes mellitus / S. B. Williams, J. A. Cusco, M. A. Roddy [et al.] // *J. Am. Coll. Cardiol.* – 1996. – V. 27. – P. 567–574.
35. Xanthine oxidase is involved in free radical production in type 1 diabetes: protection by allopurinol / Desco M.–C., Asensi M., Marquez R. [et al.] // *Diabetes.* – 2002. – V. 51. – P. 1118–1124.
36. Impact of mitochondrial ROS production on diabetic vascular complications / Nishikawa T., Kukidome D., Sonoda K. [et al.] // *Diabetes Res. Clin. Pract.* – 2007. – V. 77. – P. 41–45.
37. Normalizing mitochondrial superoxide production blocks three pathways of hyperglycaemic damage / Nishikawa T., Edelstein D., Du X. L. [et al.] // *Nature.* – 2000. – V. 404. – P. 787–790.
38. Mitochondrial redox signaling: interaction of mitochondrial reactive oxygen species with other sources of oxidative stress / Schulz E., Wenzel P., M nzel T. [et al.] // *Antioxid. Redox Signal.* – 2014 – V. 20, № 2. – P. 308–324.

39. Evidence for contribution of vascular NAD(P)H oxidase to increased oxidative stress in animal models of diabetes and obesity / Sonta T., Inoguchi T., Tsubouchi H. [et al.] // *Free Radic. Biol. Med.* – 2004. – V. 37. – P. 115–123.
40. *Ding H.* Oxidative stress and increased eNOS and NADPH oxidase expression in mouse microvessel endothelial cells / H. Ding, M. Aljofan, C. R. Triggler // *J. Cell. Physiol.* – 2007. – V. 212. – P. 682–689.
41. *AGER1* regulates endothelial cell NADPH oxidase-dependent oxidant stress via PKC- δ : implications for vascular disease / W. Cai, M. Torreggiani, Z. Li // *Am. J. Physiol. Cell. Physiol.* – 2010. – V. 298. – P. C624–C634.
42. *Shao B.* Hyperglycaemia promotes cerebral barrier dysfunction through activation of protein kinase C- β . / B. Shao, U. Bayraktutan // *Diabetes Obes. Metab.* – 2013. – V. 15, № 11. – P. 993–999.
43. Translocation of glomerular p47phox and p67phox by protein kinase C-beta activation is required for oxidative stress in diabetic nephropathy / Kitada M., Koya D., Sugimoto T. [et al.] // *Diabetes.* – 2003. – V. 52. – P. 2603–2614.
44. Glucose down-regulation of cGMP-dependent protein kinase I expression in vascular smooth muscle cell involves NAD(P)H oxidase-derived reactive oxygen species / Liu S., Ma X., Gong M. [et al.] // *Free Radic. Biol. Med.* – 2007. – V. 42. – P. 852–863.
45. *Block K.* Subcellular localization of Nox4 and regulation in diabetes / K. Block, Y. Gorin, H. E. Abboud. // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* – 2009. – V. 106. – P. 14385–14390.
46. *Li L.* Activation of nicotinamide adenine dinucleotide phosphate (reduced form) oxidase by advanced glycation end products links oxidative stress to altered retinal vascular endothelial growth factor expression / L. Li, G. Renier // *Metabolism.* – 2006. – V. 55. – P. 1516–1523.
47. Role of advanced glycation end products with oxidative stress in resistance artery dysfunction in type 2 diabetic mice / Su J., Lucchesi P. A., Gonzalez-Villalobos R. A. [et al.] // *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* – 2008. a – V. 28, № 8. – P. 1432–1438.
48. *Ray R.* NADPH oxidase and endothelial function / R. Ray, A. M. Shah // *Clin. Sci.* – 2005. – V. 109, № 3. – P. 217–226.
49. Cellular basis of endothelial dysfunction in small mesenteric arteries from spontaneously diabetic (db/db-/-) mice: role of decreased tetrahydrobiopterin bioavailability / Pannirselvam M., Verma S., Anderson T. J. [et al.] // *Br. J. Pharmacol.* – 2002. – V. 136. – P. 255–263.
50. *Cai S.* Augmented BH4 by gene transfer restores nitric oxide synthase function in hyperglycemic human endothelial cells / S. Cai, J. Khoo, K. M. Channon // *Cardiovasc. Res.* – 2005. B. – V. 65, № 4. – P. 823–831.
51. *Forstermann U.* Nitric oxide synthases: regulation and function / U. Forstermann, W. C. Sessa. // *Eur. Heart J.* – 2012. – V. 33. – P. 829–837.
52. Endothelial nitric oxide synthase uncoupling impairs endothelial progenitor cell mobilization and function in diabetes / Thum T., Fraccarollo D., Schultheiss M. [et al.] // *Diabetes.* – 2007. – V. 56, № 3. – P. 666–674.
53. Oxidative stress, nitric oxide, and diabetes / D. Pitocco, F. Zaccardi, E. Di Stasio [et al.] // *Rev. Diabet. Stud.* – 2010. – V. 7. – P. 15–25.
54. *Zou M. H.* Oxidation of the zinc-thiolate complex and uncoupling of endothelial nitric oxide synthase by peroxynitrite / M. H. Zou, C. Shi, R. A. Cohen // *J. Clin. Invest.* – 2002. – V. 109, № 6. – P. 817–826.
55. Endothelial nitric oxide synthase dysfunction in diabetic mice: importance of tetrahydrobiopterin in eNOS dimerisation / Cai S., Khoo J., Mussa S. [et al.] // *Diabetologia.* – 2005. A. – V. 48, № 9. – P. 1933–1940.
56. S-glutathionylation uncouples eNOS and regulates its cellular and vascular function / Chen C. A., Wang T. Y., Varadharaj S. [et al.] // *Nature.* – 2010. – V. 468. – P. 1115–1118.
57. *Inkster M. E.* Treatment with the xanthine oxidase inhibitor, allopurinol, improves nerve and vascular function in diabetic rats / M. E. Inkster, M. A. Cotter, N. E. Cameron // *Eur. J. Pharmacol.* – 2007. – V. 561. – P. 63–71.
58. *Li H.* Oxidative stress in vascular disease and its pharmacological prevention / Li H., Horke S., Forstermann U. // *Trends Pharmacol. Sci.* – 2013. – V. 34, № 6. – P. 313–319.
59. Circulating plasma xanthine oxidase contributes to vascular dysfunction in hypercholesterolemic rabbits / White C. R., Darley-Usmar V., Berrington W. R. [et al.] // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* – 1996. – V. 93. – P. 8745–8749.
60. Characterization of superoxide production from aldehyde oxidase: an important source of oxidants in biological tissues / Kundu T. K., Hille R., Velayutham M. [et al.] // *Arch. Biochem. Biophys.* – 2007. – V. 460, № 1. – P. 113–121.

И. В. Кизуб, К. И. Клименко, А. И. Соловьев

Участие протеинкиназы С в механизмах нарушения сосудистого тонуса при сахарном диабете. Часть 1

Сахарный диабет (СД) сопровождается развитием нарушений сосудистого тонуса. Гипергликемия является ключевым фактором, ответственным за развитие этих нарушений, и реализует свой эффект на сосудистый тонус через многие внутриклеточные механизмы. Значительная часть таких механизмов включает активацию важного регуляторного фермента протеинкиназы С (ПКС),

вовлеченного в регуляцию сосудистой функции. Основным фактором активации ПКС в сосудистой стенке при диабете является оксидативный стресс, вызванный гипергликемией. Прежде всего, активацию ПКС в сосудистой стенке при СД вызывают реактивные формы кислорода, образованные различными оксидазами, такими как НАДФН-оксидаза, циклооксигеназа, альдегидоксидаза, ксантинооксидаза, глюкозооксидаза, разобщенная эндотелиальная NO-синтаза (эНОС), а также митохондриальная электронно-транспортная цепь.

Ключевые слова: сахарный диабет, эндотелий, гипергликемия, протеинкиназа С, реактивные формы кислорода, сосудистый тонус, гладкие мышцы сосудов

I. V. Kizub, K. I. Klymenko, A. I. Soloviev

Protein kinase C participation in mechanisms of vascular tone abnormality in diabetes mellitus. Part 1.

Diabetes mellitus (DM) is a highly prevalent complex syndrome worldwide. DM leads to multiple dysfunctions including cardiovascular diseases, DM is the one of the major causes of morbidity, mortality, end-stage renal disease, and blindness. Hyperglycemia is considered to be a key factor responsible for the development and progression of vascular complications in diabetes. Several hyperglycemia-associated mechanisms have been identified to contribute to the development of vascular dysfunction associated with DM. These mechanisms include oxidative stress, the polyol pathway flux, accelerated formation of advanced glycation end products (AGEs), increased shunting of excess glucose through the hexosamine pathway, and activation of C-mitogen-activated protein kinase and protein kinase C (PKC) pathways. PKC is an important regulatory enzyme involved in the vascular function regulation. Activation of PKC in vascular wall in diabetes is induced by oxidative stress. Overproduction of reactive oxygen species by NADPH oxidase (Nox), cyclooxygenase, aldehyde oxidase, xanthine oxidase, glucose oxidase, uncoupled endothelial nitric oxide synthase, and mitochondrial electron transport chain lead to activation of PKC in vascular tissues in DM. Hyperglycemia leads to mitochondrial electron transport inhibition mainly at the complex I and III with generation of superoxide (O_2^-) transformed then to hydrogen peroxide by superoxide dismutases. On the other hand, hyperglycaemia increases activity of Nox which generates O_2^- by electron transferring from NADPH to molecular oxygen. Nox activation is mediated by AGEs through their specific receptors (RAGEs). Uncoupled eNOS also play a role in ROS generation in DM. Hyperglycaemia leads to eNOS uncoupling by diminishing level of tetrahydrobiopterin resulting in generation of O_2^- and peroxynitrite formation. All these events leads to oxidative stress and PKC activation in vascular wall.

Key words: diabetes mellitus, endothelium, hyperglycemia, protein kinase C, reactive oxygen species, vascular tone, vascular smooth muscle

Надійшла: 03.02.2014 р.

Контактна особа: Кізуб Ігор Володимирович, кандидат біологічних наук, старший науковий співробітник, відділ експериментальної терапії, ДУ «Інститут фармакології та токсикології НАМН України», буд. 14, вул. Е. Потьє, м. Київ, 03680. Тел.: +38 0 44 456 02 88.
Електронна пошта: buzzmann@ukr.net