

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

Участь протеїнкінази С (ПКС) у механізмах порушення судинного тонусу за умов цукрового діабету. Частина 3

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

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

Участь ПКС у зниженні ендотелій-опосередкованої вазодилатації за умов ЦД. Ендотеліальні клітини беруть активну участь у регуляції судинної реактивності як за фізіологічних, так і за патологічних умов через вивільнення великої кількості важливих судинорозширюючих та судинозвужуючих факторів [1]. Ендотеліальна дисфункція пов'язана зі зниженням ендотелій-залежним розширенням діабетичних судин [2–5]. Клінічні дослідження також свідчать про порушення ендотелій-залежної вазодилатації в пацієнтів з цукровим діабетом (ЦД) [6, 7]. Ендотеліальна дисфункція є системним патологічним станом, що проявляється в дисбалансі між дією судинорозширюючих та судинозвужуючих субстанцій, які продукуються ендотелієм, або в порушенні роботи ендотелію в цілому [8]. Асоційована з ЦД ендотеліальна дисфункція також проявляється в зниженні антикоагулянтних властивостей крові, збільшенні агрегації тромбоцитів, експресії адгезійних молекул, хемокінів та цитокінів [8]. Активація протеїнкінази С (ПКС) у судинному ендотелії за умов ЦД може призводити до дисфункції ендотелій-залежної вазодилатації за рахунок пригнічення шляхів, пов'язаних із оксидом азоту II (NO) [6, 9], ендотелій-залежним гіперполяризуючим фактором (ЕЗГФ) [10] та простагландіном [11]. З іншого боку, активація ПКС призводить до посилення ендотелій-залежної вазоконстрикції, що опосередкована ендотеліном-1 (ЕТ-1)

[3], простагландіном E_2 (ПГЕ₂) та тромбоксаном A_2 (ТКА₂) [11]. До ПКС-опосередкованої ендотеліальної дисфункції за умов ЦД також залучено експресію фактора росту судинного ендотелію (ФРСЕ) та активацію НАДФН-оксидаз (НОК), що призводить до збільшення утворення реактивних форм кисню (РФК) [8]. Показано, що інгібітори ПКС попереджують зниження ендотелій-залежної вазодилатації за умов гіперглікемії [2, 12]. Зокрема встановлено, що ПКС-β є залученою до індукованих гіперглікемією порушень ендотелій-залежної вазодилатації в людини [6]. Нещодавно нами було показано, що нокаутування гена РКС-δ за допомогою малих інтерференційних РНК (міРНК) призводить до повного відновлення зниженої ендотелій-залежної дилатації аорти щурів із стрептозотин (СТЗ)-індукованим діабетом [5].

Участь ПКС у порушенні NO-опосередкованої вазодилатації за умов ЦД. Оксид азоту є однією з найважливіших молекул, що синтезуються ендотеліальними клітинами та постійно утворюються за участю ендотеліальної NO-синтази (eNOC) шляхом окиснення L-аргініну [13]. NO викликає розширення кровоносних судин, проникаючи до гладеньком'язових клітин (ГМК) та активуючи там розчинну форму гуанілатциклази, що призводить до утворення циклічного 3'-5'-гуанозинмонофосфату [13]. Механізми, що лежать в основі асоційованої з діабетом ендотеліальної дисфункції, включають зниження активності та експресії eNOC [14], її роз'єднання та деградацію NO внаслідок зростаючої продукції супероксид аніона [9, 11] або зниження сигнальної здатності NO та його біодоступності [3]. За умов діабету ПКС впливає на біодос-

тупність NO не лише через внутрішньоклітинну акумуляцію РФК [9], але також і через зниження активності eNOC [14]. Встановлено, що дисфункція eNOC за умов ЦД пов'язана з пригніченням її активності ПКС- α [15], ПКС- β [16], зокрема ПКС- β_2 [6] та ПКС- δ внаслідок їхньої активації [16].

Як було встановлено, за умов діабету ПКС фосфорилує eNOC [14] за її інгібіторним сайтом Thr495 [17] та знижує фосфорилування eNOC на активуючому сайті Ser1177 [18], призводячи до зниження активності eNOC. З іншого боку, опосередковане ПКС- α пригнічення активності eNOC пов'язане зі здатністю ПКС фосфорилувати інший інгібіторний сайт eNOC Thr497, знижуючи її спорідненість до кальмодуліну, і призводить до утворення NO [19]. З іншого боку, за умов ЦД було показано ПКС-залежне зниження експресії eNOC та утворення NO в ендотеліальних клітинах судин сітківки ока [20] та аорти [11, 12]. Зниження експресії eNOC за умов діабету може відбуватися за рахунок ПКС-опосередкованої активації судинних НОК [21]. Як це було показано на аорті діабетичних щурів, пригнічення ПКС попереджало активацію НОК, знижувало eNOC-опосередковане утворення супероксид-аніона, запобігало генній індукції eNOC та відновлювало порушену ендотелій-залежну вазодилатацію [12]. З іншого боку, як це було показано на ендотеліоцитах аорти людини, підвищений рівень глюкози може викликати парадоксальну ПКС-залежну активацію експресії eNOC, яка однак супроводжується зменшенням вивільнення NO [11]. Цей ефект може бути наслідком роз'єднання eNOC, ПКС-опосередкованої активації НОК та утворення РФК, а також утворення пероксинітриду (ONOO^-), продукту реакції NO та супероксид-аніона (O_2^-) [11].

Обидва типи діабету зазвичай супроводжуються хронічною гіперінсулінемією та ендотеліальною інсулінорезистентністю [19], яка обумовлена гіперглікемією, глюкозотоксичністю та підвищеним рівнем вільних жирних кислот [19, 22, 23]. До патогенезу діабетичних судинних порушень за умов

стану ендотеліальної інсулінорезистентності залучений дисбаланс між вивільненням NO та ET-1 [19, 24]. Інсулін є вазоактивним гормоном, що стимулює утворення NO в ендотеліоцитах через активацію інсулінових рецепторів (IP). Ендотеліальні клітини експресують IP, лігандами яких, окрім самого інсуліну, є фактори росту, такі як інсуліноподібний фактор росту-1 та вже нам відомий ФРСЕ [25]. Активовані IP фосфорилують членів родини субстратів інсулінових рецепторів (CIP), призводячи надалі до активації внутрішньоклітинних ферментів фосфоінозитид-3-кінази (ФІЗК) та Akt-кінази (Akt, також відомої як протеїнкіназа B), яка, у свою чергу, фосфорилує та активує eNOC [26] або стимулює експресію гена eNOC [27]. Akt фосфорилує eNOC за Ser1177 або Thr308, що призводить до підвищення активності ферменту, а також зростання його відповідей на інші стимули [28]. Таким чином, за фізіологічних умов інсулін посилює NO-опосередковану вазодилатацію. Однак за умов інсулінорезистентності спостерігається зниження інсулін-опосередкованої сигналізації через шлях CIP/ФІЗК [24], що призводить до зниження утилізації глюкози [28], пригнічення синтезу NO [19], зростання експресії ET-1 [24] та зниження ендотелій-залежної вазодилатації [19, 24, 28].

За умов інсулінорезистивності ПКС- β_2 [27, 29] та ПКС- δ [30] пригнічують ФІЗК та Akt в ендотеліоцитах, знижуючи фосфорилування eNOC [19, 23, 24, 29]. Було показано, що активація ПКС, зокрема ізоформи ПКС- β [23, 24, 29], селективно пригнічує активацію Akt та eNOC інсуліном в ендотеліоцитах діабетичних тварин [24] та пацієнтів [23, 29] через зниження фосфорилування Akt за Ser473 та eNOC за Ser1179 [23, 29]. Зростання рівня вільних жирних кислот також може активувати ПКС та знижувати опосередковану субстратом інсулінових рецепторів 1 (CIP-1) активність ФІЗК [22]. Нещодавно було показано, що ПКС фосфорилує субоддиницю p85 ФІЗК за Thr86 [24], яка пригнічує активацію інсуліном Akt/eNOC в ендотелії аорти [31] та стегнової артерії [24].

З іншого боку, за умов діабету ПКС

може фосфорилувати СІР-1 та СІР-2 за Ser24 [26], які втрачають при цьому здатність зв'язуватися з ФІЗК та активувати її. Це також призводить до інактивзації Akt [27]. Як це було показано на культивованих ендотеліоцитах аорти корів, ПКС- β_2 може фосфорилувати СІР-2 за Ser303 та Ser675, пригнічуючи тим самим викликану інсуліном активацію Akt/eNOC [24]. Встановлено також, що активація ПКС призводить до пригнічення стимульованої інсуліном експресії інформаційної РНК eNOC у культивованих ендотеліоцитах [27].

Участь ПКС у порушенні опосередкованої щільними контактами вазодилатації за умов ЦД. ЕЗГФ також залучений до ендотеліальної дисфункції за умов ЦД, оскільки ЕЗГФ-опосередкована вазодилатація в діабетичних судинах є пригніченою [4, 10]. Вважається, що розслаблення ГМК, яке пов'язане з гіперполяризацією сарколеми, не залежить від дії NO або простагліцину, які вивільняються ендотелієм, а опосередковується ЕЗГФ [32]. Природа ЕЗГФ залишається остаточно не з'ясованою, однак, найімовірніше він не є справжнім хімічним медіатором. Більшість дослідників схиляються до думки про те, що ЕЗГФ є гіперполяризацією мембрани ендотеліоцитів, яка поширюється на мембрану ГМК через міоендотеліальні щільні контакти (МЕЩК) [32, 33].

Прямі комунікації в ендотеліальному шарі та шарі ГМК, а також між ними за участю щільних контактів (ЩК), є важливим модулятором судинного тонуусу та суттєві для контролю й координації нормальних судинних функцій [32, 33]. Судинні ЩК складаються з міжклітинних каналів, які безпосередньо сполучають цитоплазму сусідніх клітин, дозволяючи проходженню електричного струму та дрібних сигнальних молекул [33]. У судинній стінці ЩК складаються з чотирьох протеїнів, що мають назву конексини (Сх, зокрема Сх37, Сх40, Сх43 та Сх45) та утворюють один канал – конексон, який разом із конексоном мембрани протилежної клітини формує повний міжклітинний канал [34]. Ендотелій поєднаний з внутрішнім шаром ГМК за

допомогою МЕЩК [33]. Електричні та біохімічні властивості ЩК регулюються фосфорилуванням та дефосфорилуванням конексинів, змінами концентрації Ca^{2+} , а також на рівні транскрипції та трансляції [35]. Важливо також зазначити, що фосфорилування конексинів є дуже чутливим до концентрації глюкози із залученням ПКС-опосередкованих сигнальних шляхів [35, 36].

Діабетичний стан може безпосередньо впливати на міоендотеліальні міжклітинні комунікації. Показано, що найчутливішою до дії гіперглікемії є функція ЩК у резистивних судинах [7]. Показано, що рівень експресії ендотеліальних Сх37 та Сх40 та відповідно ЩК, сформованих цими білками, є зниженим у різних судинних регіонах мишей із СТЗ-індукованим діабетом І типу [37]. Довготривала гіперглікемія також призводить до пригнічення ендотеліальних ЩК, що містять Сх37 та Сх40, в аорті мишей [38]. Як це встановлено на дрібних мезентеріальних артеріях щурів з ожирінням лінії Zucker, рівень РНК та рівень білка Сх40 є зниженим та корелює з пригніченням ендотелій-залежної вазодилатації [39]. З іншого боку, багато досліджень свідчать про те, що високий рівень глюкози призводить до пригнічення Сх43 в ендотелії, що має відношення до розвитку діабетичної ретинопатії [40] та еректильної дисфункції за ЦД [41]. Inoguchi та співавтори показали, що в ендотеліальних клітинах аорти корів гіперглікемія пригнічує комунікації через ЩК за участю ПКС [36]. Подібні результати було отримано для мікросудин сітківки ока щурів з СТЗ-індукованим діабетом [42]. Також встановлено, що підвищений рівень глюкози через ПКС-опосередковане фосфорилування Сх43 може впливати на активність ЩК в культивованих ГМК аорти корів [43].

Участь ПКС у збільшенні опосередкованої ендотеліом-1 вазоконстрикції за умов ЦД. ET-1 є пептидом, що складається з 21 амінокислоти та синтезується судинним ендотелієм [44]. Це потужний вазоконстриктор, який бере участь у регуляції судинного тонуусу як

за фізіологічних, так і патофізіологічних умов [45]. За умов діабету та гіперглікемії спостерігається зростання експресії та секреції ET-1 в ендотелії, що відіграє важливу роль у розвитку гіпертонусу судинної стінки [1, 45, 46]. Дослідження ролі ET-1 у розвитку патологічних змін ретинальної гемодинаміки за умов ЦД показали, що надмірна експресія ET-1 пов'язана з активацією ПКС, зокрема ПКС- β_2 та ПКС- δ [46], що призводить до зниження кровотоку в сітківці та ретинопатії [47]. Також за умов інсулінорезистентності було встановлено, що надекспресія ПКС- β в ендотеліоцитах призводить до пригнічення інсулін-індукованої сигналізації та посилення експресії ET-1, призводячи до ендотеліальної дисфункції [24]. Показано, що ПКС може викликати зростання експресії ET-1 через шлях, опосередкований міоген-активованими протеїнкіназами (МАПК) [47]. Добре задокументовано, що цей механізм, як мінімум, може залучати активацію кінази, що активується позаклітинним сигналом (КПС, або англійською ERK), одного з членів МАПК з боку ПКС- β_2 [46]. Встановлено також, що зростання скоротливості стінки аорти та коронарних артерій за ЦД I типу у відповідь на ET-1 пов'язано зі збільшенням активності ПКС [48]. Опосередковане ПКС- β зростання експресії ET-1 також залучене до порушення ниркової гемодинаміки за умов ЦД [49, 50].

Участь ПКС у збільшенні опосередкованої простаноїдами вазоконстрикції за умов ЦД. Простаноїди є кінцевим

продуктом трансформації арахідонової кислоти. Вона вивільняється з плазматичної мембрани під дією фосфоліпаз і потім трансформується за участю двох ізоформ циклооксигенази (ЦОГ), ЦОГ-1 та ЦОГ-2, а в подальшому – специфічних ізомераз [51]. Утворені за участю ЦОГ простаноїди відіграють важливу роль у діабетичних судинних ускладненнях та залучені до розвитку ендотеліальної дисфункції внаслідок гіперглікемії [11, 51]. Як це показано в ендотеліальних клітинах аорти людини, гіперглікемія викликає ПКС-залежне зростання експресії індукованої ЦОГ-2, що призводить до збільшення синтезу ТКА₂ та зниження утворення простагландину (або простагландину I₂, ППІ₂) [11]. При цьому активація ПКС може викликати eNOC-залежне утворення пероксинітриду та інактивацію ППІ₂-синтази (ППГС) через нітрацію її тирозину [11]. ППГС є ферментом, що каталізує синтез ППІ₂ із загального попередника всіх простагландинів – простагландину H₂ (ПГН₂) [11]. Утворення вазоактивного ейкозаноїду ППЕ₂ також збільшується в ендотелії діабетичних судин [51, 52]. До того ж було показано, що вазоконстрикторний ефект ППЕ₂ та агоніста рецепторів простагландину E 1 та 3 (EP1-/EP3) – сульфпростону підвищений в очеревинних артеріях щурів з ЦД II типу та чутливий до селективного пригнічення ПКС- δ [51]. Як свідчать автори цього дослідження, викликане діабетом зростання опосередкованої EP3 вазоконстрикції є результатом активації ПКС- δ [51].

1. Sena C. M. Endothelial dysfunction – a major mediator of diabetic vascular disease / C. M. Sena, A. M. Pereira, R. Seiça // Biochem. Biophys. Acta. – 2013. – V. 1832, № 12. – P. 2216–2231.
2. Cotter M. A. Effects of protein kinase C β inhibitor LY333531 on neural and vascular function in rats with streptozotocin-induced diabetes / M. A. Cotter, A. M. Jack, N. E. Cameron // Clin. Sci. – 2002. – V. 103. – P. 311–321.
3. Involvement of NO and MEK/ERK pathway in enhancement of endothelin-1-induced mesenteric artery contraction in later-stage type 2 diabetic Goto-Kakizaki rat / Matsumoto T., Ishida K., Nakayama N. [et al.] // Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol. – 2009. – V. 296. – P. H1388–H1397.
4. Leo C. H. Impairment of both nitric oxidemediated and EDHF-type relaxation in small mesenteric arteries from rats with streptozotocin-induced diabetes / C. H. Leo, J. L. Hart, O. L. Woodman // Br. J. Pharmacol. – 2011 B. – V. 162. – P. 365–377.
5. 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).
6. Inhibition of protein kinase C β prevents impaired endothelium-dependent vasodilation caused by hyperglycemia in humans / Beckman J. A., Goldfine A. B., Gordon M. B. [et al.] // Circ. Res. – 2002. – V. 90. – P. 107–111.

7. Effect of gap junction uncoupler heptanol on resistance arteries reactivity in experimental models of diabetes, hyperlipemia and hyperlipemia-diabetes / A. Georgescu, N. Alexandru, E. Constantinescu [et al.] // *Vasc. Pharm.* – 2006. – V. 44. – P. 513–518.
8. 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.
9. Oxidative stress, nitric oxide, and diabetes / D. Pitocco, F. Zaccardi, E. Di Stasio [et al.] // *Rev. Diabet. Stud.* – 2010. – V. 7. – P. 15–25.
10. Gao X. Endothelium-derived hyperpolarizing factor and diabetes / Gao X., Martinez-Lemus L. A., Zhang C. // *World J. Cardiol.* – 2011. – V. 3, № 1. – P. 25–31.
11. High glucose causes upregulation of cyclooxygenase-2 and alters prostanoid profile in human endothelial cells: role of protein kinase C and reactive oxygen species / F. Cosentino, M. Eto, P. De Paolis [et al.] // *Circulation* – 2003. – V. 107. – P. 1017–1023.
12. Mechanisms underlying endothelial dysfunction in diabetes mellitus / Hink U., Li H., Mollnau H. [et al.] // *Circ. Res.* – 2001. – V. 88. – P. E14–E22.
13. Moncada S. The L-arginine–nitric oxide pathway / S. Moncada, A. Higgs // *N. Engl. J. Med.* – 1993. – V. 329. – P. 2002–2012.
14. Inhibition of endothelial nitric oxide synthase activity by protein kinase C / Hirata K., Kuroda R., Sakoda T. [et al.] // *Hypertension.* – 1995. – V. 25. – P. 180–185.
15. Oxidized low-density lipoprotein increases superoxide production by endothelial nitric oxide synthase by inhibiting PKC α / I. Fleming, A. Mohamed, J. Galle [et al.] // *Cardiovasc. Res.* – 2005. – V. 65, № 4. – P. 897–906.
16. Förstermann U. Therapeutic effect of enhancing endothelial nitric oxide synthase (eNOS) expression and preventing eNOS uncoupling / U. Förstermann, H. Li // *Br. J. Pharmacol.* – 2011. – V. 164. – P. 213–223.
17. Phosphorylation of Thr495 regulates Ca²⁺/calmodulin-dependent endothelial nitric oxide synthase activity / I. Fleming, S. Fisslthaler, B. E. Dimmeler [et al.] // *Circ. Res.* – 2001. – V. 88, № 11. – P. E68–E75.
18. Coordinated control of endothelial nitric-oxide synthase phosphorylation by protein kinase C and the cAMP-dependent protein kinase / Michell B. J., Chen Z. P., Tiganis T. [et al.] // *J. Biol. Chem.* – 2001. – V. 276, № 21. – P. 17625–17628.
19. Reciprocal relationships between insulin resistance and endothelial dysfunction: molecular and pathophysiological mechanisms / J. A. Kim, M. Montagnani, K. K. Koh [et al.] // *Circulation.* – 2006. – V. 113. – P. 1888–1904.
20. Characterization of protein kinase C beta isoform's action on retinoblastoma protein phosphorylation, vascular endothelial growth factor-induced endothelial cell proliferation, and retinal neovascularization / Suzuma K., Takahara N., Suzuma I. [et al.] // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* – 2002. – V. 99. – P. 721–726.
21. 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.
22. Effects of free fatty acids on glucose transport and IRS-1-associated phosphatidylinositol 3-kinase activity / Dresner A., Laurent D., Marcucci M. [et al.] // *J. Clin. Invest.* – 1999. – V. 103. – P. 253–259.
23. Protein kinase C-beta contributes to impaired endothelial insulin signaling in humans with diabetes mellitus / Tabit C. E., Shenouda S. M., Holbrook M. [et al.] // *Circulation.* – 2013. – V. 127. – P. 86–95.
24. Induction of vascular insulin resistance, endothelin-1 expression, and acceleration of atherosclerosis by the overexpression of protein kinase C β isoform in the endothelium / Q. Li, K. Park, C. Li [et al.] // *Circ. Res.* – 2013. – V. 113. – P. 418–427.
25. Akt pathway is hypoactivated by synergistic actions of diabetes mellitus and hypercholesterolemia resulting in advanced coronary artery disease / Shannon R. P., Birnbaum M. J., Wilensky R. L. [et al.] // *Am. J. Physiol. Heart. Circ. Physiol.* – 2010. – V. 299. – P. H699–H706.
26. Guo S. Molecular basis of insulin resistance: the role of IRS and Foxo1 in the control of diabetes mellitus and its complications / S. Guo // *Drug Discovery Today: Disease Mechanisms.* – 2013. – V. 10, № 1–2. – P. e27–e33.
27. Regulation of endothelial constitutive nitric oxide synthase gene expression in endothelial cells and *in vivo*: a specific vascular action of insulin / Kuboki K., Jiang Z. Y., Takahara N. [et al.] // *Circulation.* – 2000. – V. 101. – P. 676–681.
28. Compromised arterial function in human type 2 diabetic patients / Okon E. B., Chung A. W., Rauniyar P. [et al.] // *Diabetes.* – 2005. – V. 54. – P. 2415–2423.
29. Activation of vascular protein kinase C-beta inhibits Akt-dependent endothelial nitric oxide synthase function in obesity-associated insulin resistance / Naruse K., Rask-Madsen C., Takahara N. [et al.] // *Diabetes.* – 2006. – V. 55. – P. 691–698.
30. PKCdelta-mediated IRS-1 Ser24 phosphorylation negatively regulates IRS-1 function / M. W. Greene, M. S. Ruhoff, R. A. Roth [et al.] // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* – 2006. – V. 349. – P. 976–986.
31. Inhibition of insulin signaling in endothelial cells by protein kinase C induced phosphorylation of p85 subunit of phosphatidylinositol 3-kinase (PI3K) / Maeno Y., Li Q., Park K. [et al.] // *J. Biol. Chem.* – 2012. – V. 287. – P. 4518–4530.

32. *Feletou M.* Endothelium-derived hyperpolarising factors and associated pathways: a synopsis / M. Feletou, P. Vanhoutte // *Pflugers Arch.* – 2010. – V. 459, № 6. – P. 863–879.
33. *Figueroa X. F.* Gap junctions in the control of vascular function / X. F. Figueroa, B. R. Duling // *Antioxid. Redox Signal.* – 2009. – V. 11, № 2. – P. 251–266.
34. *Brisset A. C.* Connexins in vascular physiology and pathology / A. C. Brisset, B. E. Isakson, B. R. Kwak // *Antioxid. Redox. Signal.* – 2009. – P. 11, № 2. – P. 267–282.
35. *Lin D.* Oxidative activation of protein kinase C γ through the C1 domain: effects on gap junctions / D. Lin, D. J. Takemoto // *J. Biol. Chem.* – 2005. – V. 280. – P. 13682–13693.
36. Altered gap junction activity in cardiovascular tissues of diabetes / Inoguchi T., Yu H. Y., Imamura M. [et al.] // *Med. Electron. Microsc.* – 2001. – V. 34. – P. 86–91.
37. Downregulation of connexin40 is associated with coronary endothelial cell dysfunction in streptozotocin-induced diabetic mice / Makino A., Platoshyn O., Suarez J. [et al.] // *Am. J. Physiol. Cell. Physiol.* – 2008. – V. 295. – P. C221–C230.
38. Reduced expression of endothelial connexin37 and connexin40 in hyperlipidemic mice: recovery of connexin37 after 7-day simvastatin treatment / Yeh H. I., Lu C. S., Wu Y. J. [et al.] // *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* – 2003. – V. 23. – P. 1391–1397.
39. Reduced EDHF responses and connexin activity in mesenteric arteries from the insulin-resistant obese Zucker rat / Young E. J., Hill M. A., Wiehler W. B. [et al.] // *Diabetologia.* – 2008. – V. 51. – P. 872–881.
40. *Li A. F.* High glucose-induced downregulation of connexin 43 expression promotes apoptosis in microvascular endothelial cells. *Invest. Ophthalmol* / A. F. Li, S. Roy // *Vis. Sci.* – 2009. – V. 50. – P. 1400–1407.
41. Expressions of eNOS and connexin 43 in the penile tissue of rats with diabetic erectile dysfunction / Chen W. G., Zhu X. F., Hou J. Q. [et al.] // *Zhonghua Nan Ke Xue.* – 2008. – V. 14. – P. 427–430.
42. Diabetes-induced disruption of gap junction pathways within the retinal microvasculature / H. Oku, T. Kodama, K. Sakagami [et al.] // *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* – 2001. – V. 42. – P. 1915–1920.
43. High glucose induces alteration of gap junction permeability and phosphorylation of connexin-43 in cultured aortic smooth muscle cells / Kuroki T., Inoguchi T., Umeda F. [et al.] // *Diabetes.* – 1998. – V. 47. – P. 931–963.
44. A novel potent vasoconstrictor peptide produced by vascular endothelial cells / Yanagisawa M., Kurihara H., Kimura S. [et al.] // *Nature.* – V. 1988. – P. 332. – P. 411–415.
45. *Ergul A.* Endothelin-1 and diabetic complications: focus on the vasculature / A. Ergul // *Pharmacol. Res.* – 2011. – V. 63. – P. 477–482.
46. Induction of endothelin-1 expression by glucose: an effect of protein kinase C activation / Park J. Y., Takahara N., Gabriele A. [et al.] // *Diabetes.* – 2000. – V. 49. – P. 1239–1248.
47. Role of protein kinase C on the expression of platelet-derived growth factor and endothelin-1 in the retina of diabetic rats and cultured retinal capillary pericytes / Yokota T., Ma R. C., Park J. Y. [et al.] // *Diabetes.* – 2003. – V. 52. – P. 838–845.
48. *Tickerhoof M. M.* Alterations in rat coronary vasoreactivity and vascular protein kinase C isoforms in Type 1 diabetes / M. M. Tickerhoof, P. A. Farrell, D. H. Korzick // *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* – 2003. – V. 285. – P. H2694–H2703.
49. Association between endothelin-1 and collagen deposition in db/db diabetic mouse kidneys / Mishra R., Emancipator S. N., Kern T. S. [et al.] // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* – 2006. – V. 339. – P. 65–70.
50. Reduction of diabetes-induced oxidative stress, fibrotic cytokine expression, and renal dysfunction in protein kinase C β -null mice / Y. Ohshiro, R. C. Ma, Y. Yasuda [et al.] // *Diabetes.* – 2006. – V. 55. – P. 3112–3120.
51. Protein kinase C delta contributes to increase in EP3 agonist-induced contraction in mesenteric arteries from type 2 diabetic Goto-Kakizaki rats / K. Ishida, T. Matsumoto, K. Taguchi [et al.] // *Eur. J. Physiol.* – 2012. – V. 463. – P. 593–602.
52. *Ayalasomayajula S. P.* Inhibition of cyclooxygenase-2, but not cyclooxygenase-1, reduces prostaglandin E2 secretion from diabetic rat retinas / Ayalasomayajula S. P., Amrite A. C., Kompella U. B. // *Eur. J. Pharmacol.* – 2004. – V. 498. – P. 275–278.

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

Участь протейнінази С (ПКС) у механізмах порушення судинного тонусу за умов цукрового діабету. Частина 3

Ендотеліальні клітини беруть активну участь у регуляції судинної реактивності шляхом вивільнення великої кількості важливих судинорозширюючих та судинозвужуючих факторів. Ендотеліальна дисфункція є одним з важливих компонентів розвитку судинної дисфункції при цукровому діабеті (ЦД) внаслідок гіперглікемії та ендотеліальної інсулінорезистентності. У першу чергу, діабетична ендотеліальна дисфункція проявляється в розвитку дисбалансу в дії судинорозширюючих та судинозвужуючих субстанцій, що продукуються ендотелієм. Активація протейнінази С (ПКС) у судинному ендотелії за ЦД може викликати порушення ендотелій-залежної вазодилатації за рахунок пригнічення шляхів, пов'язаних із синтезом та вивільненням оксиду азоту II (NO), реалізацією дії ендотеліальних факторів.

телей-залежного гіперполяризуючого фактора (ЕЗГФ) за участі міоендотеліальних щільних контактів (ЩК) та зниження утворення простагландину (або простагландину I₂, ПГІ₂). З іншого боку, при ЦД активація ПКС призводить до підсилення ендотелій-залежної вазоконстрикції за рахунок підсилення вивільнення ендотеліну-1 (ЕТ-1), простагландину E₂ (ПГЕ₂) та тромбоксану A₂ (ТКА₂). До розвитку ПКС-опосередкованої ендотеліальної дисфункції за ЦД також є залученою експресія фактора росту судинного ендотелію (ФРСЕ), а також активація НАДФН-оксидаз, що призводить до посилення утворення реактивних форм кисню.

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

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

Участие протеинкиназы С (ПКС) в механизмах нарушения сосудистого тонуса при сахарном диабете. Часть 3

Эндотелиальные клетки принимают активное участие в регуляции сосудистой реактивности путем освобождения большого количества важных сосудорасширяющих и сосудосуживающих факторов. Эндотелиальная дисфункция является одним из важных компонентов развития сосудистой дисфункции при сахарном диабете (СД) вследствие гипергликемии и эндотелиальной инсулинорезистентности. В первую очередь, диабетическая эндотелиальная дисфункция проявляется в развитии дисбаланса в действии сосудорасширяющих и сосудосуживающих субстанций, продуцируемых эндотелием. Активация протеинкиназы С (ПКС) в сосудистом эндотелии при СД может вызывать нарушение эндотелий-зависимой вазодилатации за счет угнетения путей, связанных с синтезом и выделением оксида азота II (NO), реализацией действия эндотелий-зависимого гиперполяризующего фактора (ЭЗГФ) при участии миоэндотелиальных плотных контактов (ПК) и снижения образования простагландин (или простагландин I₂, ПГІ₂). С другой стороны, при СД активация ПКС приводит к усилению эндотелий-зависимой вазоконстрикции за счет усиления освобождения эндотелина-1 (ЕТ-1), простагландин E₂ (ПГЕ₂) и тромбоксана A₂ (ТКА₂). В развитии ПКС-опосредованной эндотелиальной дисфункции при СД также вовлечена экспрессия фактора роста сосудистого эндотелия (ФРСЕ) и активация НАДФН-оксидаз, что приводит к увеличению образования реактивных форм кислорода.

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

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

Protein kinase C (PKC) participation in mechanisms of vascular tone abnormality in diabetes mellitus. Part 3

Endothelial cells actively regulate vascular reactivity by releasing a variety of relaxing and contracting factors. Endothelial dysfunction is the one of the most important components of vascular dysfunction in diabetes mellitus (DM) as a result of hyperglycaemia and endothelial insulin-resistance. Endothelial dysfunction is a systemic pathological condition broadly defined as an imbalance between vasodilating and vasoconstricting mediators produced by the endothelium. In diabetes activation of endothelial protein kinase C (PKC) results in endothelium-dependent vasodilator dysfunction by inhibiting vasodilatation mediated by nitric oxide II (NO) synthesis and release, effect of endothelium-derived hyperpolarising factor (EDHF) via myoendothelial gap junctions (GJ), and synthesis of prostacyclin (or prostaglandin I₂, PGI₂). On the other hand, PKC activation in DM results in increasing endothelium-dependent vasoconstriction mediated by endothelin-1 (ET-1), prostaglandin E₂ (PGE₂), and thromboxane A₂ release. PKC-mediated endothelial dysfunction in diabetes also involves vascular endothelial growth factor (VEGF) expression and NADPH oxidases (Nox) activation leading to increased reactive oxygen species (ROS) production.

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

Надійшла: 14.03.2015 р.

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