

# Роля на протеин-киназа С В развитието на микро- и макроваскуларни диабетни усложнения

Д-р Силвия Пашкунова,<sup>1</sup> доц. Валентин Иванов,<sup>3</sup> доц. Алексей Савов<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Клиника по ендокринология, ВМА

<sup>2</sup>ДНК-анализ към Националната генетична лаборатория към СБАЛАГ „Майчин дом“

<sup>3</sup>Катедра по ендокринология и пулмология, ВМА

Много диабетни усложнения се свързват с увеличената експресия на протеин-киназа С (PKC). Такива например са промени в кръвния ток, задебеляване на базалната мембрана, екстрацелуларна матриксна експанзия, нарушен васкуларен пермеабилитет, ангиогенеза, алтернатива на клетъчния растеж и ензимно активиране на Na-K АТР-аза, сРЛА2 и МАП-киназа.

## Алтернации на кръвния поток при диабетци

Една от най-характерните черти, появяващи се рано в хода на диабета, са хемодинамичните промени, като промяната в кръвотока и съдовия контрактилитет. Хемодинамичните алтернации се срещат в много тъкани – бъбреци, ретина, кожа, артерии и нерви.

Увеличаването на гломерулната филтрация и последващото увеличение на реналния кръвоток са усложнения в резултат от намаляването на прегломерулното артериално съпротивление, водещо до хронична елевация на гломерулното филтрационно налягане, което може да доведе до прогресия на диабета.<sup>1-3</sup>

PKC може да промени функцията на някои ендотелни фактори в бъбрека. Например, гломерулните простагландини  $E_2$ ,  $I_2$ , а  $\Phi_{2\alpha}$  се уве-

личават 2 седмици след изязата на диабета.<sup>4-5</sup> Тази елевация води до увеличено освобождаване на арахидоновата киселина в мезангиални култури при хипергликемия.<sup>6</sup> PKC играе важна роля в регулацията на арахидоновата киселина. При диабетци се увеличава регулацията на арахидоновата киселина от цитолитични ензими при условия на хипергликемия. Глюкозоиндуцираното увеличение на простагландиновия синтез и арахидоновата киселина, освободени от мезангиалните клетки, се протектират от общи инхибитори на PKC – Н-7-стауреспорин<sup>7-8</sup> и бета-селективния инхибитор, рубоксистаурин.

И елевацията, и намалението на вазодилататорния NO (азотен оксид) се свързва с промените в кръвния ток и контрактилитет, водещи до гломерулна хиперфилтрация.<sup>9-10</sup> Ролята на PKC в реналната азотна продукция се предполага, докато общите PKC инхибитори, Н-7 или стауреспорин намаляват цитокин-индуцираната продукция на NO чрез eNOS под влияние на високите глюкозни нива.<sup>10</sup> Производството на NO и цикличен гуанозинмонофосфат са намалени в гломерулите на плъхове-диабетици и PKC-инхибиторите възстановяват отговора на нормалния cGMP.<sup>11-13</sup> Тази вероятно глюкозоиндуцирана PKC-активация

може да регулира реналната хемодинамика от увеличаването или редуцирането на NO-продукцията, зависима от типа клетки, които се изследват.

PKC може да намали ретиналния кръвоток при диабет с малка продължителност – по-малко от 10 години.<sup>14-17</sup> След 10 години от изязата на диабета кръвотокът в ретината следва да бъде непроменен или дори увеличен.<sup>18</sup> Аномалии в ретиналния кръвоток и развитието на ретинална исхемия могат да доведат до съдова дисфункция от увеличен съдов пермеабилитет, стеснен капиларен диаметър, нарушен васкуларен тонус и увеличена микроаневризмална област. Исхемията води до увеличение на експресията на растежните фактори на ангиогенезата, такива като съдовия ендотелен растежен фактор (VEGF), водещи до макуларен едем и пролиферативна ретинопатия.<sup>19</sup>

Ролята на PKC-активацията, освен редуция на кръвния ток, води и до редица други събития. Инжектирането на форболов естер – основният PKC-активатор, може да редуцира кръвотока. PKC-инхибиторите могат да нормализират ретиналния кръвен ток при опитни животни и пациенти. Един от пътищата, по които активацията на PKC може да намали ретиналния

кръвоток, е чрез увеличаване на ендотелните растежни фактори като ендотелин-1.<sup>20</sup> Експресията на ET-1 е увеличена в ретината, реналните гломерули и сърцето.<sup>21, 22</sup>

Предполага се, че хипергликемията, индуцираща исхемия, играе роля в развитието на диабетната полиневропатия, докато вазодилаторите, които увеличават кръвотока по нервите, доказват нервната функция при родственици.<sup>23</sup> Ролята на РКС-активацията при диабетната невропатия не е ясна, като се предполага, че ФИ (фосфатидилинозитол), промяната и намаляването на нивата на ДАГ са причина за редуцията на активността на РКС в периферните нерви. Намалената РКС-активност може да редуцира фосфолирирането на Na-K-АТФ-аза, водещо до намаляване на нервната проводимост и регенерация.<sup>24</sup> Предполага се, че РКС влияе на диабетната невропатия по невровакуларен механизъм.

Най-сигнификантните структурни промени на васкуларния и реналния мезангиум са задебеляването на капилярната базална мембрана и матриксната експанзия.<sup>26</sup> Тези промени се реализират чрез увреждането на васкуларния пермеабилитет, клетъчна адхезия, пролиферация, диференциация и генна експресия.<sup>26</sup>

Между всички експресията на трансформиращия фактор бета-1 и тъканно свързващия играят ключова роля в развитието на задебеляването на базалната мембрана и увеличаването на екстрацелуларния матрикс (ЕСМ) при диабетници. И двата фактора са известни като регулатори на акумулацията на ЕСМ и стимулират продукцията на матриксни компоненти, като колаген 4, фибронектин и ламинин в мезангиални клетъчни култури и гломерулни епителни клетки.<sup>27, 28</sup> Транскрипционните фактори c-fos и c-jun се индуцират от РКС. Увеличението на мДНК-експресията на c-fos и c-jun протонкогени са описани във високи нива в мезангиални клетъчни култури при високи глюкозни нива.<sup>29-32</sup>

РКС-активацията може директно да увеличи пермеабилитета на макромолекулите<sup>33-36</sup> през ендотелните или епителните бариери от фосфолирирането на цитоскелетните протеини<sup>37-41</sup> или чрез регулиране на експресията и активността на различни растежни фактори.<sup>42-43</sup> РКС-активацията има отношение към фосфолирирането на цитоскелетните протеини калдесмон, виментин, талин и винкулин.<sup>37, 38, 41</sup> Форболовите естери могат да индуцират бърза редистрибуция на актин и виментин в цитоскелета.<sup>39</sup> Свърхекспресията на РКС-бета<sub>1</sub> в човешките дермални микроваскуларни ендотелни клетки увеличава форбол-естерните индуцирани ефекти за увеличаване на пермеабилитета за албумин.<sup>44</sup> РКС-инхибиторите имат афинитет за глюкозо-индуцираната пропускливост за албумина, с определена критична роля на РКС в активацията и регулирането на ендотелната бариерна функция.<sup>36</sup> Нови проучвания сочат, че повишените глюкозни нива увеличават съдовата пропускливост чрез активиране на РКС-алфа,<sup>45</sup> докато увеличаването на клетъчния пермеабилитет може да се възпре от употребата на намаляващи чувствителността олигонуклеотиди срещу РКС-алфа. Това показва, че РКС-активацията при условия на хипергликемия намалява ендотелните бариерни функции *in vitro*, вероятно инхибирайки някои изоформи, зависими от изследваните тъкани.

Регулирането на експресията и активацията на различни растежни фактори от РКС<sup>42-43</sup> може също да увеличи капилярния пермеабилитет. Елевацията на васкуларния растежен фактор и васкуларен фактор на пропускливостта са увеличени в ретината на диабетници, което имплицира в неовакуларизация при пролиферативната диабетна ретинопатия.<sup>43</sup> Тези растежни фактори и по-скоро техният митогенен и

пермеабилитетен ефект се извършват в ендотелните клетки от активирането на няколко изоформи под индукцията на фосфолирирането на тирозина от РКС-гама.<sup>46</sup>

Na-K-АТФ-аза е компонент на електролитната помпа и е ключова за клетъчния контрактилитет, растеж и диференциация.<sup>47</sup> Ефектите ѝ са намалени във васкуларната и нервната тъкан при диабетници.<sup>48-50</sup> Инхибицията на Na-K-АТФ-аза от хипергликемията е отговорна за активирането на РКС и увеличението на цитозолната фосфолипаза А2.<sup>51</sup> Кси и колеги доказаха, че инхибирането на РКС може да превантира намаляването на Na-K-АТФ-аза във васкуларните гладкомускулни клетки при хипергликемия. Така активирането на различните изоформи на РКС може също да активира или инхибира Na-K-АТФ-аза.<sup>51</sup> Специфичните инхибитори на РКС предпазват от редуцията на Na-K-АТФ-аза, индуцирана при повишаване на глюкозните нива между 5–20 mmol/l.<sup>51</sup> В контраст, активността на РКС нормализира Na-K-АТФ-азна активност в периферните нерви.

## Заклучение

РКС-активацията играе ключова роля при много заболявания от възпалителен и онкологичен произход, както и при диабетните съдови усложнения. Инхибицията ѝ, особено на изоформата бета<sub>1,2</sub>, води до нормализирането на много васкуларни абнормности в различни тъкани. Много клинични проучвания демонстрират ефекта от приложението на РКС-инхибитори, нормализиращи ендотелната дисфункция, бъбречната гломерула филтрация и предпазва от загуба на зрение. Това са новите терапевтични средства, които могат да забавят или спрат прогресията на диабетните съдови усложнения.

## Литература

1. Christiansen JS, Gammelgaard J, Fradsen M, Parving HH. Increased kidney size, glomerular filtration rate and renal plasma flow in short-term insulin dependent diabetes. *Diabetologia* 1981; 20:451–6.

**Пълната библиографска справка е на разположение в издателството и може да бъде представена при поискване.**