

С-ПЕПТИД: СТРУКТУРА, ФУНКЦИИ И МОЛЕКУЛЯРНЫЕ МЕХАНИЗМЫ ДЕЙСТВИЯ

© A. O. Шпаков,¹ O. K. Гранстрем²

¹ Институт эволюционной физиологии и биохимии им. И. М. Сеченова РАН

и ² ЗАО «Фарм-Холдинг», Санкт-Петербург;

¹ электронный адрес: alex_shpakov@list.ru

С-пептид, образующийся в процессе биосинтеза инсулина, длительное время рассматривали как биологически неактивное вещество. Однако в последние годы появились доказательства того, что дефицит С-пептида при сахарном диабете (СД) 1-го типа или его избыток при СД 2-го типа приводят к развитию нарушений в сердечно-сосудистой, нервной, выделительной и других системах организма. Показано, что в физиологических концентрациях С-пептид обладает противовоспалительным, иммуномодулирующим и нейропротекторным действием, вследствие чего он и его синтетические аналоги могут получить широкое применение при лечении пациентов с СД и профилактике осложнений СД. Для эффективного использования С-пептида в медицине необходимо исследование его структурно-функциональной организации и молекулярных механизмов влияния на фундаментальные клеточные процессы. Установлено, что С-пептид через receptor серпантинного типа, сопряженный с G_{i/o}-белками, регулирует функциональную активность множества внутриклеточных сигнальных каскадов, которые включают в себя фосфолипазу Сβ, различные формы протеинкиназы С, фосфатидилинозитол-3-киназы и митогенактивируемые протеинкиназы, эндотелиальную NO-синтазу, Na⁺/K⁺-АТФазу, широкий спектр транскрипционных факторов и ядерных рецепторов. С-пептид контролирует стабильность гексамерных комплексов инсулина и влияет, таким образом, на активность инсулина и регулируемых им сигнальных путей. Анализу современного состояния проблемы структурно-функциональной организации С-пептида и механизмов его действия на внутриклеточные сигнальные каскады, а также перспективам применения С-пептида в фундаментальной биологии и клинической медицине посвящен настоящий обзор.

Ключевые слова: Na⁺/K⁺-АТФаза, воспалительный процесс, гетеротримерный G-белок, диабет, иммуномодулятор, инсулин, митогенактивируемые протеинкиназы, С-пептид, NO-синтаза, фактор NF-κB, фосфолипаза С.

Принятые сокращения: ДПН — диабетическая периферическая нейропатия, ИРС-1 — субстрат-1 инсулинового рецептора, ИФР-1 — инсулиноподобный фактор роста-1, КТ — коклюшный токсин, ПКС — протеинкиназа С, СД1 и СД2 — сахарный диабет 1-го и 2-го типов соответственно, ФИ-3-К — фосфатидилинозитол-3-киназа, ФЛСβ — фосфолипаза Сβ; ФНОα — фактор некроза опухолей α, CREB — cAMP-response-element-binding protein, JAK2 — Janus-активируемая протеинкиназа-2, MCP-1 — monocyte chemoattractant protein-1, PPARγ — peroxisome proliferator-activated receptor-γ, STAT — signal transducers and activators of transcription, ZEB — zinc-finger E-box binding protein.

С-пептид является продуктом биосинтеза инсулина и образуется при расщеплении молекулы проинсулина, в которой он соединяет А- и В-цепи гормона. Соответствующая С-пептиду аминокислотная последовательность обеспечивает правильное взаимное расположение А- и В-цепей и ответственна за образование между ними дисульфидных связей, что делает инсулин биологически активным. На протяжении многих лет после открытия С-пептида Дональдом Штайнером в 1967 г. было принято считать, что он не активен и не выполняет в организме сколько-нибудь важных функций (Steiner et al., 1967). Поскольку С-пептид и инсулин секретируются β-клетками поджелудочной железы в эквимолярных количествах, измерение концентрации С-пептида в плазме крови долгое время применяли в диагностических целях для количественной оценки выработки инсулина β-клетками, а также для изучения фармакодинамики и фармакокинетики инсулина. В последние 15 лет появились неоспоримые

свидетельства того, что С-пептид является одним из ключевых регуляторов биохимических и физиологических процессов в организме и контролирует множество внутриклеточных сигнальных каскадов.

В настоящее время установлено, что многие патологические изменения, возникающие в органах и тканях при сахарном диабете 1-го и 2-го типов (СД1 и СД2 соответственно), непосредственно связаны с дефицитом С-пептида в условиях инсулиновой недостаточности (при СД1) или вызваны его избыточной продукцией в условиях гиперинсулинемии (при СД2). Однако несмотря на значительные успехи, достигнутые в изучении молекулярных механизмов действия С-пептида, по-прежнему остается много вопросов как в отношении сигнальных путей, через которые он осуществляет свое регуляторное действие на клетку, так и в отношении влияния С-пептида на сигнальные каскады, контролируемые другими гормонами и ростовыми факторами, в первую оче-

редь инсулином и инсулиноподобным фактором роста-1 (ИФР-1).

Мало изученными остаются изменения и нарушения в регулируемых С-пептидом сигнальных каскадах, возникающие при СД. Настоящий обзор посвящен современному состоянию проблемы молекулярных механизмов действия С-пептида, а также анализу взаимосвязей между изменениями в сигнальных каскадах, регулируемых С-пептидом, и нарушениями в сердечно-сосудистой, нервной и выделительной системах при СД.

Структура С-пептида

С-пептид, расположенный в центральной части молекулы проинсулина, выявлен у представителей различных классов позвоночных животных и имеет длину от 28 аминокислотных остатков у птиц и земноводных до 38 аминокислотных остатков у рыбы *Allmouth goosefish*. Протяженность С-пептидов большинства млекопитающих, в том числе человека, составляет 31 аминокислотный остаток (рис. 1). Необходимо отметить, что у некоторых грызунов имеются две формы проинсулина и, соответственно, две формы С-пептида.

В отличие от А- и В-цепей инсулина первичная структура С-пептида характеризуется высокой вариабельностью, особенно в центральной его части, которая представляет собой обогащенную остатками глицина гидрофильную петлю, обеспечивающую высокую конформационную подвижность молекулы проинсулина. Относительно консервативными являются только N- и C-концевые сегменты С-пептида. В С-пептиде млекопитающих N-концевой сегмент содержит высококонсервативные остатки Glu3, Gln6, Glu11 и Leu12 (нумерация здесь и далее по С-пептиду человека) и способен к формированию короткой α -спирали, имеющей отрицательно заряженную сторону, которую образуют боковые карбоксильные группы высококонсервативных остатков Glu3 и Glu11 и менее консервативных остатков Glu1 и Asp4. Доля спиральности С-пептида сильно возрастает в присутствии спиралеобразующего растворителя трифторэтанола, в то время как замены локализованных в N-концевом сегменте остатков Asp4, Val7, Gly8 и Val10 на пролин, который дестабилизирует α -спиральную конформацию, напротив, приводят к утрате модифицированным С-пептидом способности образовывать N-концевую α -спираль (Henriksson et al., 2005). N-концевой сегмент отвечает за олигомеризацию С-пептида, причем ключевую роль здесь играет остаток Glu11 (Jornvall et al., 2010; Nerelius et al., 2010).

Полноразмерный С-пептид способен образовывать гомоолигомеры, включающие в себя до шести молекул С-пептида, в то время как фрагменты 1—11 и 11—21 С-пептида образуют тримерные и пентамерные комплексы соответственно, но в отличие от полноразмерного С-пептида, который обычно включен в олигомерные комплексы, в случае фрагментов превалируют их мономерные формы. В присутствии фрагментов 1—11 и 11—21 олигомеризация полноразмерного С-пептида снижается, что указывает на конкуренцию между ними и С-пептидом за места связывания на молекуле последнего. Фрагменты, не включающие в себя остаток Glu11, имеют сниженную способность к олигомеризации и слабо влияют на комплексообразование С-пептида (Nerelius et al., 2010). С-пептид активен в мономерном состоянии, вслед-

<pre> 1 # ##### #######***** +++++ 2 EAEDLQVGQVELGGGPGAGSLQPLALEGSLO 3 EAEDLAVGQVELGGGPGAGSLQPLALEGSLO 4 EAEDPQVGQVELGGGPGAGSLQPLALEGSLO 5 EVEELQVGQAEELGGGPDAGGLQPSALELALQ 6 EVEDPQVAQLELGGGPGAGDLQTLALEVARQ 7 EVEDPQVAQLELGGGPGAGDLQTLALEVARQ 8 EVEDPQVAQLELGGGPGAGDLQTLALEVAQQ 9 EVEDPQVPQLELGGGPGTGDQTLALEVARQ 10 GVEDPQVAQLELGGGPGAGDLQTLALEVAQQ 11 GVEDPQVTQLELGGGPGAGDLQTLALEVAQQ 12 EAEDLQVGQVELGGGSITGSL-P-PLEGPMQ 13 EAEDLQVGQVELGGGSITGSL-P-ALEGPLQ 14 EVEDPQVPQLELGGGPEAGDLQTLALEVARQ 15 EVEDPQVAQLELGGGPGAGDLQTLALEVARQ 16 EAEDLQKGKDAEGLGEAPGAGGLQPSALEAPLQ 17 GVEDPQVAQLELGGGPGADDLQTLALEVAQQ 18 EVEDPQVAQLELGEPEGPEAGDLQTLALEVARQ 19 EVEDPQVEQLELGGAPGTGDLETLALEVARQ 20 GVEDPQMPQLELGGSPGAGDLQALALEVARQ 21 EVEDPQVEQLEGGSP--GDLQTLALEVARQ 22 ELEDLQVEQAEGL--LEAGGLQPSALEMILQ 23 EVEDTQVGEVELG---TG-LQPFPAAEPRQ 24 ELEDPQVEQTELGMGLGAGGLQPLALEMALQ 25 EVEEQQGGQVELGGGPGAGLPQPLALEMALQ </pre>
--

Рис. 1. Сравнительный анализ первичных структур С-пептидов млекопитающих.

Знаком # отмечен участок, ответственный за образование гомоолигомерных комплексов С-пептида и за взаимодействие с инсулином; звездочка — гидрофильная петля, необходимая для оптимального кросс-связывания А- и В-цепей инсулина; знаком плюс — участок, ответственный за специфическую биологическую активность С-пептида. Жирным шрифтом выделены высококонсервативные или полностью консервативные аминокислотные остатки. Цифры слева: 1 — человек *Homo sapiens*, западная горилла *Gorilla gorilla*, шимпанзе *Pan troglodytes*, обыкновенный орангутанг *Pongo pygmaeus*; 2 — суматранский орангутанг *Pongo abelii*; 3 — зеленая мартышка *Chlorocebus aethiops*, северный белошерстый гиббон *Nomascus leucogenys*; 4 — собака *Canis lupus familiaris*; 5 — кролик *Oryctolagus cuniculus*; 6 — С-пептид из проинсулина-2, крыса *Rattus norvegicus*; 7 — С-пептид из проинсулина-2, тайваньская полевая мышь *Apodemus semotus*; 8 и 21 — С-пептид из проинсулина-2 и из проинсулина-1 соответственно, синантропная домовая мышь *Mus musculus*, рюкюйская мышь *Mus caroli*; 9 — С-пептид из проинсулина-2, белобрюхая крыса *Niviventer coninga*; 10 — тайваньская полевка *Microtus kikuchi*; 11 — китайский хомячок *Cricetus griseus*; 12 — трехполосная дурукули (обезьяна) *Aotus trivirgatus*; 13 — обыкновенная игрунка *Callithrix jacchus*; 14 — С-пептид из проинсулина-1, крыса *Rattus norvegicus*, 15 — С-пептид из проинсулина-1, тайваньская полевая мышь *Apodemus semotus*; 16 — домашняя кошка *Felis catus*; 17 — длиннохвостый хомячок *Mesocricetus auratus*; 18 — С-пептид из проинсулина-1, белобрюхая тайваньская крыса *Niviventer coninga*; 19 — С-пептид из проинсулина-1, тайваньская полевая мышь *Apodemus semotus*; 20 — монгольская песчанка *Meriones unguiculatus*; 22 — дегу *Octodon degus*; 23 — африканский саванный слон *Loxodonta africana*; 24 — домашняя морская свинка *Cavia porcellus*; 25 — суслик тринадцатиполосый *Ictidomys tridecemlineatus*.

ствие чего его способность к образованию комплексов является одним из механизмов его депонирования, как это происходит и в случае комплексов некоторых других пептидных регуляторов, в том числе инсулина.

C-концевой сегмент C-пептида содержит высококонсервативные остатки Leu26, Glu27 и Gln31, которые образуют LEXXXQ-мотив и формируют поворот β III-типа (Munte et al., 2005). C-концевой сегмент ответствен за специфическую биологическую активность C-пептида, в пользу чего свидетельствуют данные о том, что C-концевые пента- и гексапептиды, включающие в себя этот мотив, обладают активностью, сходной с таковой полноразмерного C-пептида (Ohtomo et al., 1998; Zhong et al., 2004; Nordquist et al., 2007; Hach et al., 2008; Keltner et al., 2010). В то же время C-концевой сегмент не участвует в олигомеризации C-пептида. Таким образом, молекулярные детерминанты, ответственные за образование комплексов и специфическую биологическую активность, расположены в различных участках молекулы C-пептида.

Биологическая активность C-пептида в значительной степени зависит от присутствия катионов цинка, которые образуют комплекс как с полноразмерным C-пептидом, так и с его C-концевыми фрагментами (Medawala et al., 2009; Keltner et al., 2010). В отсутствие Zn^{2+} C-пептид и его C-концевой пентапептид не влияют на высвобождение АТФ эритроцитами, что является одним из типичных регуляторных эффектов C-пептида. Кроме того, влияние C-концевых фрагментов C-пептида на сниженную в условиях СД1 способность эритроцитов к деформации полностью блокируется в присутствии комплексообразователя ЭДТА, связывающего катионы кальция и цинка (Hach et al., 2008). Установлено, что катион цинка образует ионные связи с боковой отрицательно заряженной карбоксильной группой высококонсервативного остатка Glu27. Образование комплекса между Zn^{2+} и Glu27 необходимо для специфического связывания C-пептида с рецептором и для реализации его регуляторного влияния на внутриклеточные белки-мишени. В этой связи следует отметить, что замена Glu27 в пентапептиде на аланин приводит к полной потере им биологической активности, а соответствующая замена в полноразмерном C-пептиде снижает ее на 50 % (Pramanik et al., 2001). Косвенно на способность C-пептида с высоким сродством взаимодействовать с катионами цинка указывает и тот факт, что различные по локализации участки C-пептида гомологичны связывающим Zn^{2+} участкам ДНК-связывающих белков цинковых пальцев. Проведенный нами анализ первичной структуры C-пептида человека показывает, что его участки 5—19 и 14—31 имеют 60 и 67 % идентичных аминокислотных остатков при сравнении соответственно с участком 140—154 C4H2-доменсодержащего белка цинковых пальцев кролика (ref|XP_001517803.2|) и участком 157—174 белка-519 цинковых пальцев человека (gb|EAX01498.1|).

Специфическое связывание C-пептида с клеточными мембранами

C-пептид с высокой специфичностью связывается с клетками различных типов человека, в том числе с эндотелиальными клетками, фибробластами кожи, клетками почечных канальцев, а также с β -клетками аденомы поджелудочной железы крысы (Flatt et al., 1986; Rigler et al., 1999; Henriksson et al., 2001). Специфическое связывание выявлено и для C-концевых пентапептидов, производных C-пептидов крысы (EVARQ) и человека (EGSLQ), которые конкурентно вытесняют C-пептид из его связывающих мест. При этом проинсулин, инсулин, ИФР-1, ИФР-2, а также C-пептид, сконструированный из D-ами-

нокислот, не влияют на специфическое связывание C-пептида и его C-концевого фрагмента (Rigler et al., 1999). Это свидетельствует о том, что как полноразмерный C-пептид, так и его C-концевой фрагмент связываются с одним и тем же рецептором. Как отмечалось выше, ключевую роль в связывании C-пептида и его фрагментов с рецептором играет остаток Glu27, что свидетельствует в пользу катионной природы лигандсвязывающего сайта специфичного к C-пептиду рецептора. Замены на аланин других C-концевых остатков в C-пептиде либо не влияют на его связывающие характеристики и биологическую активность (Gly28), либо снижают их в небольшой степени (Ser29, Leu30 и Gln31) (Pramanik et al., 2001).

Максимальное число связывающих мест для C-пептида (приблизительно 1000—1500 на клетку) обнаружено в почечных канальцах. Полумаксимальное насыщение связывающих мест наблюдалось при концентрации C-пептида 0.3 нМ, полное насыщение — при 0.9 нМ, что соответствует его физиологическим концентрациям (0.3—3 нМ). Этим объясняется тот факт, что регуляторные эффекты C-пептида выявляются только в условиях его острого дефицита при СД1, который характеризуется сильно выраженной инсулиновой недостаточностью, в то время как пациенты с нормальным или повышенным уровнем C-пептида к нему мало чувствительны (Johansson et al., 1992b).

Одной из интересующих проблем в изучении молекулярных механизмов действия C-пептида является природа специфичного к нему рецептора. Имеющиеся в настоящее время данные свидетельствуют о том, что C-пептид связывается с рецептором серпантинного типа, 7 раз пронизывающим плазматическую мембрану, который функционально сопряжен с гетеротримерными $G_{i/o}$ -белками, чувствительными к АДФ-рибозилтрансферазе коклюшного токсина (КТ). В пользу этого свидетельствует то, что обработка КТ в значительной степени снижает специфическое связывание C-пептида с рецептором (Rigler et al., 1999). Преинкубация с КТ также снижает или полностью подавляет многие регуляторные эффекты C-пептида, в том числе стимуляцию C-пептидом и его C-концевым пентапептидом активности Na^+/K^+ -АТФазы (Tsimaratos et al., 2003), эндотелиальной NO-синтазы (Wallerath et al., 2003; Kitamura et al., 2003) и митогенактивируемых протеинкиназ ERK1/2 (Kitamura et al., 2001). Следует отметить, что $G_{i/o}$ -белки являются ключевыми звенями в сигнальных каскадах, через которые осуществляется регуляция гормонами перечисленных выше ферментов, что является еще одним доказательством специфического взаимодействия C-пептида с рецептором, сопряженным с этим типом G-белков. Однако до сих пор попытки установить молекулярную структуру рецептора C-пептида остаются безуспешными.

Проведенное нами сравнение первичной структуры C-пептида человека с другими полипептидными гормонами выявило значительную гомологию между ним и эндотелинами, которые специфически связываются с рецепторами, сопряженными с G-белками, в том числе с $G_{i/o}$ -белками. Так, у человека участки 11—28 C-пептида и 56—73 эндотелина-3 имеют 50 % идентичных и 83 % экзифункциональных аминокислотных остатков. Необходимо отметить, что многие внутриклеточные мишени действия C-пептида и эндотелинов совпадают, в том числе фосфоинозитид-специфичная фосфолипаза С β (ФЛС β), митогенактивируемые протеинкиназы (ERK1/2, p38-киназа, c-Jun NH₂-терминальные киназы), новые формы протеинкиназы С (ПКС δ и ПКС ϵ), фос-

фатидилинозитол-3-киназа (ФИ-3-К), эндотелиальная NO-синтаза и RhoA-белок (Sugden, Clerk, 2005). Это позволяет предположить, что рецептор для C-пептида может иметь функциональное и структурное сходство с эндотелиновыми рецепторами.

Транслокация C-пептида внутрь клетки и гипотеза внутриклеточного рецептора для C-пептида

Сравнительно недавно показали, что C-пептид проникает через плазматическую мембрану внутрь клетки и в дальнейшем обнаруживается в ядре, как это было продемонстрировано для фибробластов Swiss 3T3 и клеток HEK 293 (Lindahl et al., 2007). C-пептид выявлялся в ядрах, где он регулировал транскрипцию генов, кодирующих рибосомальную РНК (Lindahl et al., 2010). Показано, что транслокация C-пептида в цитоплазму и далее в ядро происходит вследствие его интернализации в составе внутриклеточных структур, которые обнаруживаются как вблизи клеточной мембраны, так и в цитоплазме. Обнаружено, что при обработке C-пептидом эндотелиальных клеток аорты человека (НАЕС) и гладкомышечных клеток пупочной артерии его интернализация начинается уже через 5 мин, достигает максимума через 0.5 ч и завершается через 1 ч, причем содержащие C-пептид зернистые структуры ассоциированы с ранними эндосомами, и значительная их часть перемещается к лизосомам (Lurpi et al., 2009). В связи с обнаружением C-пептида внутри клетки получила распространение гипотеза о том, что он может специфически связываться с внутриклеточными мишениями, например с ядерными рецепторами, и регулировать генную экспрессию. Однако тот факт, что большая часть внутриклеточного C-пептида транспортируется к лизосомам, где происходит его деградация, свидетельствует не в пользу этой гипотезы. Вероятнее всего, C-пептид сначала связывается со специфичным к нему мембранным рецептором серпантинного типа, а уже затем его комплекс с рецептором подвергается эндоцитозу и деградации в лизосомах.

Регуляция Na⁺/K⁺-АТФазы

Одной из основных мишеней регуляторного действия C-пептида в различных тканях и клеточных культурах является чувствительная к уабаину Na⁺/K⁺-АТФаза, которая представляет собой олигомерный комплекс с ферментативной активностью, использующий энергию гидролиза АТФ для транспорта катионов натрия и калия через плазматическую мембрану. Установлено, что функциональная активность Na⁺/K⁺-АТФазы во многих тканях и клетках крови пациентов, страдающих СД1, в значительной степени снижается, что сопровождается дефицитом C-пептида (Vague et al., 2004; Hach et al., 2008). Показано, что лечение C-пептидом восстанавливает сниженную в условиях СД активность Na⁺/K⁺-АТФазы. Так, физиологические концентрации C-пептида повышают активность Na⁺/K⁺-АТФазы в седалищном нерве крыс линии BB/Wor со спонтанным СД1 до ее уровня у здоровых животных (Sima et al., 2001). Лечение C-пептидом в течение 1 нед полностью предотвращает снижение экспрессии α_1 -субединицы Na⁺/K⁺-АТФазы в почках диабетических крыс (Nordquist et al., 2010).

C-пептид контролирует функциональную активность Na⁺/K⁺-АТФазы через 2 сигнальных каскада, которые включают в себя специфичный к нему рецептор, сопряженный с G_{i/o}-белками (рис. 2). Первый из них выявлен в клетках почечных канальцев и в эндотелиальных клетках сосудов и запускается вследствие стимуляции ФЛСβ физиологическими концентрациями C-пептида, что приводит к синтезу диацилглицерина и повышению внутриклеточной концентрации катионов кальция ([Ca²⁺]_i) (Shafqat et al., 2002). Вслед за этим происходит транслокация различных изоформ ПКС к плазматической мембране, где они вызывают транслокацию RhoA-белка из цитоплазмы к плазматической мембране с последующей стимуляцией митогенактивируемых протеинкиназ — ERK1/2, p38-киназы и c-Jun NH₂-терминальных киназ. Митогенактивируемые протеинкиназы стимулируют активность α_1 -субединицы Na⁺/K⁺-АТФазы и наряду с этим активируют транскрипционные факторы, которые усиливают экспрессию α_1 -субединицы Na⁺/K⁺-АТФазы (Kitamura et al., 2001; Tsimaratos et al., 2003; Zhong et al., 2004, 2005; Galuska et al., 2011). Среди активируемых C-пептидом транскрипционных факторов, ответственных за повышение экспрессии α_1 -субединицы Na⁺/K⁺-АТФазы, определяющую роль играет Е-бокс-связывающий белок цинковых пальцев (ZEB, Zinc-finger E-box Binding protein). На это указывает тот факт, что выключение гена, кодирующего ZEB-фактор, сильно ослабляет эффект C-пептида на экспрессию α_1 -субединицы Na⁺/K⁺-АТФазы. Известно, что ZEB взаимодействует с нуклеотидной последовательностью, локализованной в промоторном участке гена, кодирующему α_1 -субединицу Na⁺/K⁺-АТФазы, и является, таким образом, специфическим транскрипционным фактором, регулирующим его экспрессию (Ikeda, Kawakami, 1995). Показано, что физиологические концентрации C-пептида повышают связывание ZEB-фактора с ДНК, ассоциированное с повышением экспрессии α_1 -субединицы Na⁺/K⁺-АТФазы. Это связывание блокируется в присутствии ингибиторов ПКС и митогенактивируемых протеинкиназ, что указывает на их участие в регуляции C-пептидом активности ZEB-фактора (Galuska et al., 2011).

Следует отметить, что различные формы ПКС оказывают на активность Na⁺/K⁺-АТФазы противоположные влияния. Установлено, что C-пептид, действуя в физиологических концентрациях, стимулирует активность новых изоформ ПКС δ и ПКС ϵ , которые ответственны за активацию ERK1/2-киназ и зависимое от них повышение активности Na⁺/K⁺-АТФазы (Zhong et al., 2005; Galuska et al., 2011). Это приводит к восстановлению функциональной активности фермента, сниженной в условиях СД. В то же время вызываемая гипергликемией стимуляция классических изоформ ПКС, ПКС α и ПКС β , напротив, приводит к инактивации Na⁺/K⁺-АТФазы вследствие усиления эндоцитоза субединиц фермента, как это показано для первичной культуры клеток почечных канальцев человека (Galuska et al., 2011). Сходный механизм ингибирующего эффекта гипергликемии на Na⁺/K⁺-АТФазу выявлен в сетчатке глаза, миокарде и в эндотелии сосудов (Inoguchi et al., 1992; Kowluru et al., 1998). При этом сам C-пептид не оказывает заметного влияния на ПКС α и ПКС β , что указывает на отсутствие функциональной связи между специфичным к нему рецептором и сигнальными каскадами, включающими в себя эти изоформы ПКС.

Обнаружен и другой сигнальный каскад, опосредующий стимуляцию Na⁺/K⁺-АТФазы C-пептидом. Он включает

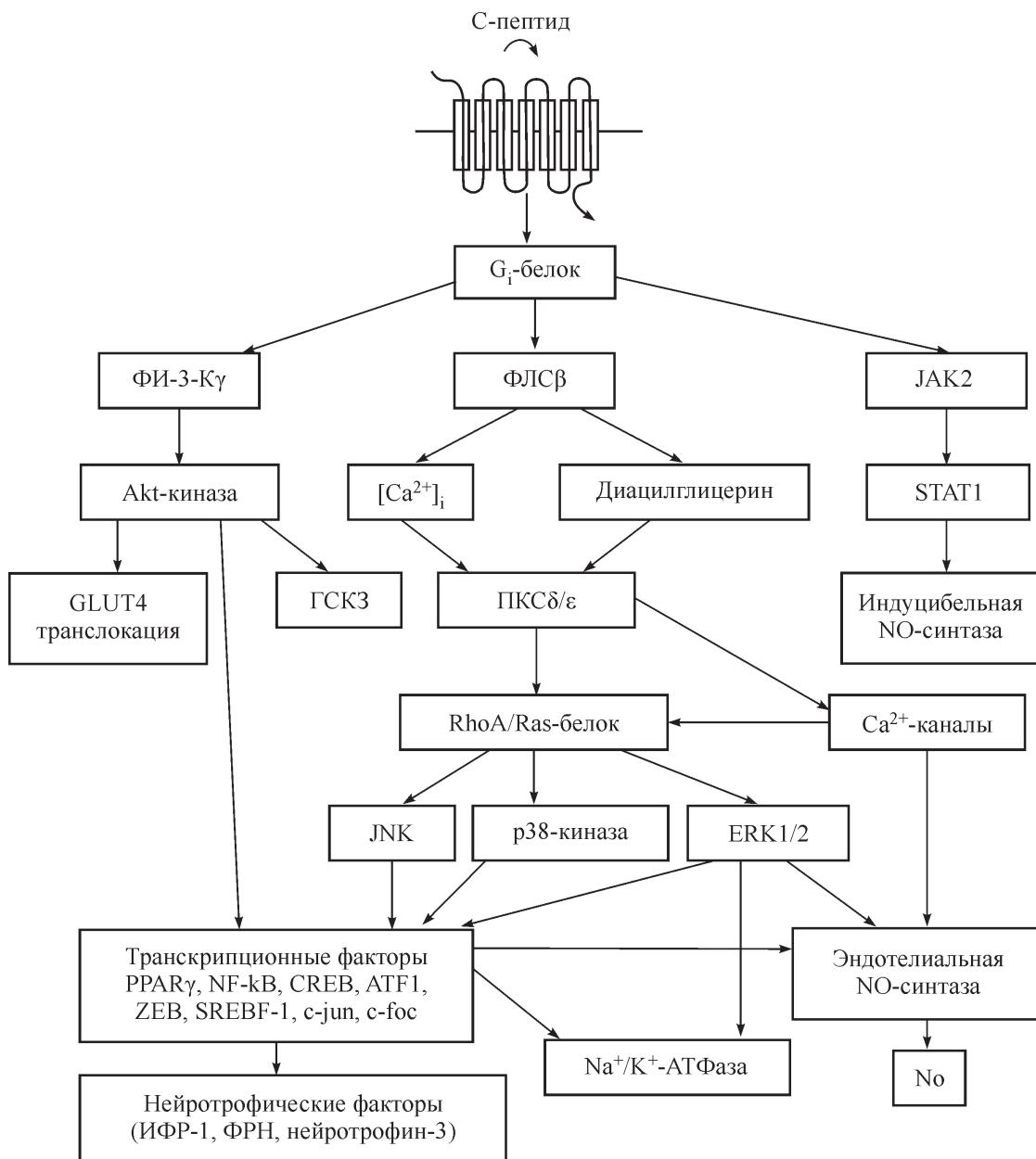


Рис. 2. Схема внутриклеточных сигнальных каскадов, регулируемых С-пептидом.

ФЛСβ — фосфолипаза Сβ, ПКС — протеинкиназа С, JAK2 — Janus-активируемая протеинкиназа-2, STAT1 — signal transducer and activator of transcription-1, ФИ-3-Кγ — фосфатидилинозитол-3-киназа-γ, ГСК3 — киназа-3 гликогенсинтетазы, GLUT4 — глюкозный транспортер-4, RhoA — Ras homolog gene family, member A, JNK — c-Jun-NH₂-терминалная протеинкиназа, ERK — киназа, регулируемая внеклеточным сигналом, ИФР-1 — инсулиноподобный фактор роста-1, ФРН — фактор роста нервов.

чает в себя стимуляцию С-пептидом сопряженной с G_{i/o}-белками γ-изоформы ФИ-3-К, гетеродимерного фермента, включающего в себя регуляторную p101-субъединицу и ассоциированную с ней каталитическую p110-субъединицу. В дальнейшем ФИ-3-Кγ через посредство Akt-киназы (протеинкиназы B) активирует транскрипционный фактор PPARγ (peroxisome proliferator-activated receptor-γ), относящийся к семейству ядерных рецепторов, регулируемых транскрипционными факторами, что в конечном итоге приводит к повышению экспрессии гена, кодирующего α₁-субъединицу Na⁺/K⁺-АТФазы (Al-Rasheed et al., 2004). PPARγ регулирует экспрессию и ряда других генов, ответственных за развитие воспалительных процессов и сосудистых нару-

шений, в том числе атеросклероза, в патогенетические механизмы развития которых вовлечен С-пептид, причем регуляторное действие PPARγ может осуществляться как вследствие непосредственного контроля транскрипции генов, так и опосредованно, в результате взаимодействия с другими транскрипционными факторами (Pasceri et al., 2000; Lehrke, Lazar, 2005).

Регуляция эндотелиальной NO-синтазы

Эндотелиальная NO-синтаза катализирует синтез из аргинина оксида азота, важнейшего вторичного посредника, ответственного за вазодилатацию. С-пептид стиму-

лирует активность NO-синтазы как вследствие активации ФЛСβ с последующим повышением $[Ca^{2+}]_i$ (Walerath et al., 2003), так и путем активации митогенактивируемых протеинкиназ ERK1/2 и ERK1/2-зависимых транскрипционных факторов, что приводит к повышению экспрессии гена, кодирующего эндотелиальную NO-синтазу (Scalia et al., 2000; Kitamura et al., 2003). В обоих случаях стимулирующий NO-синтазу эффект C-пептида осуществляется через посредство G_{i/o}-белков, поскольку преинкубация эндотелиальных клеток с КТ полностью его блокирует (Kitamura et al., 2003; Walerath et al., 2003). Стимуляция NO-синтазы C-пептидом также подавляется кальцийсвязывающими агентами, снижающими $[Ca^{2+}]_i$.

При СД1 человека и экспериментальных моделях этого заболевания наблюдается значительное снижение активности эндотелиальной NO-синтазы, что приводит к нарушению микроциркуляции крови и вызывает осложнения со стороны сердечно-сосудистой, выделительной и нервной систем (Wahren et al., 2012). Лечение C-пептидом и его C-концевыми фрагментами стимулирует выработку NO клетками эндотелия сосудов, восстанавливает микроциркуляцию и улучшает кровоснабжение скелетных мышц, миокарда, периферических нервов, кожи, почек и тканей мозга (Johansson et al., 1992a, 2004; Forst et al., 1998; Jensen, Messina, 1999; Hansen et al., 2002; Cotter et al., 2003; Wallerath et al., 2003; Stevens et al., 2004; Joshua et al., 2005). Эти данные указывают на то, что у пациентов с СД1 эндотелиальная NO-синтаза может быть одной из главных мишней терапевтического действия C-пептида и его укороченных аналогов.

Следует отметить, что C-пептид может опосредованно влиять на эндотелиальную NO-синтазу в клетках эндотелия сосудов, стимулируя высвобождение АТФ из эритроцитов, сильно сниженное при различных формах СД. Показано, что C-пептид в присутствии катионов Fe²⁺ и Cr³⁺ стимулирует захват глюкозы эритроцитами через GLUT1-транспортеры. Это усиливает высвобождение ими АТФ, который связывается с пуринергическими рецепторами, расположенными на поверхности клеток эндотелия сосудов, стимулирует опосредуемый вследствие их активации синтез NO, что в конечном итоге приводит к расширению сосудов и улучшает микроциркуляцию крови (Meyer et al., 2008). Стимулирующее влияние C-пептида на секрецию АТФ эритроцитами было отчетливо выражено в случае диабетических пациентов и намного слабее выявлялось при обработке C-пептидом эритроцитов, взятых от здоровых доноров, что, вероятно, связано с повышением чувствительности эритроцитов к C-пептиду в условиях диабетической патологии.

Регуляция инсулиновой сигнальной системы

В течение последних 10 лет установлено, что C-пептид модулирует функциональную активность инсулиновой сигнальной системы, причем эти эффекты C-пептида осуществляются на различных этапах передачи инсулинового сигнала — на уровне инсулинового рецептора, субстрата-1 инсулинового рецептора (ИРС-1), гетеродимерных p85/p110 ФИ-3-К и нижележащих эффекторных белков, в частности Akt-киназы. Характер влияния C-пептида на инсулиновую сигнальную систему сильно зависит от стехиометрического соотношения инсулина и C-пептида (Jensen, Messina, 1999; Grunberger et al., 2001; Grunberger, Sima, 2004). В присутствии высоких концен-

траций инсулина C-пептид ингибирует активность инсулиновой сигнальной системы, в то время как в присутствии низких концентраций гормона он, напротив, ее повышает, действуя как инсулиномиметик.

В основе активирующего действия C-пептида на инсулиновую сигнальную систему лежит его способность вызывать диссоциацию неактивных гексамерных комплексов инсулина и генерировать активные, мономерные, формы гормона (Shafqat et al., 2006; Jornvall et al., 2010; Nerelius et al., 2010). Во взаимодействие с инсулином вовлечены участки C-пептида, ответственные за образование гомоолигомерных комплексов самого C-пептида, и ключевую роль в этом процессе играет остаток Glu11 (Nerelius et al., 2010). Лишенные этого остатка фрагменты 1—10 и 12—21 в отличие от фрагментов 1—11 и 11—21 практически не взаимодействуют с инсулином и не влияют на стабильность его комплексов. Аффинность C-пептида и его N-концевых фрагментов к инсулину выше, чем к C-пептиду. Это свидетельствует о том, что дезагрегация олигомерных комплексов инсулина является одной из важнейших функций C-пептида. Как и в случае образования гомоолигомерных комплексов C-пептида, некоторые катионы, в частности Zn²⁺, Ca²⁺, Fe²⁺ и Cr³⁺, повышают эффективность взаимодействия C-пептида и его фрагментов с комплексами инсулина и их дезагрегирующий эффект, в то время как удаление этих катионов с помощью комплексообразователей (ЭДТА), напротив, препятствует такому взаимодействию (Nerelius et al., 2010). Следует отметить, что катионы цинка также необходимы и для стабилизации гексамерных комплексов инсулина. Таким образом, катионы металлов обеспечивают динамическое равновесие между олигомерными и мономерными комплексами инсулина и C-пептида, регулируя функциональную активность сигнальных систем, чувствительных к инсулину и C-пептиду.

Наряду с контролем диссоциации олигомерного комплекса инсулина C-пептид регулирует процесс аутофосфорилирования инсулинового рецептора и активацию им ИРС-1-белка, что непосредственно влияет на функциональную активность нижележащих сигнальных белков, ФИ-3-К и Akt-киназы в частности (Grunberger et al., 2001; Li et al., 2001; Grunberger, Sima, 2004). В физиологических концентрациях (0,3—3 нМ) C-пептид существенно повышает фосфорилирование инсулинового рецептора и сопряженного с ним ИРС-1-белка, стимулирует активность ФИ-3-К, митогенактивируемых протеинкиназ, p90 рибосомальной S6-киназы и киназы-3 гликогенсинтетазы, как это показано для L6-миобластов и L6-миоцитов (Grunberger et al., 2001). Следует отметить, что C-пептид не влияет на стимуляцию приведенных выше эффекторных белков инсулином в высоких концентрациях, что указывает на сходство сигнальных путей, через которые осуществляется регуляторное действие C-пептида и инсулина. Следовательно, в зависимости от соотношения концентраций инсулина и C-пептида они могут функционально замещать друг друга или, напротив, конкурировать между собой за внутриклеточные мишени.

Механизмы регуляции C-пептидом воспалительных процессов

При действии на клетки различных типов C-пептид вызывает выраженный противовоспалительный эффект. Один из сигнальных каскадов, вовлеченных в реализа-

цию этого эффекта, включает в себя транскрипционный фактор NF-кВ, который играет ключевую роль в контроле воспалительных реакций (Tak, Firestein, 2001; Haidet et al., 2012). В неактивном состоянии NF-кВ образует локализованный в цитозоле гетеродимерный комплекс, состоящий из двух субъединиц, p50 и p65, связанных с ингибирующим белком IкВ. При активации фактора NF-кВ высокими концентрациями глюкозы, свободными формами кислорода или фактором некроза опухолей α (ФНО α) IкВ-белок фосфорилируется, подвергается деградации 26S-протеосомой, а высвобождаемый в результате этого p50/p65-гетеродимер транслоцируется в ядро и инициирует транскрипцию вовлеченных в развитие воспалительных реакций генов, кодирующих провоспалительные цитокины, интерлейкин-8 и хемоаттрактантный белок-1 моноцитов, а также белки, вызывающие поверхностную адгезию клеток. При физиологических концентрациях С-пептид подавляет вызываемую глюкозой и ФНО α активацию NF-кВ, ингибирует транслокацию p50/p65-гетеродимера в ядро и снижает экспрессию генов, кодирующих адгезивные белки и провоспалительные цитокины (Luppi et al., 2008; Cifarelli et al., 2011; Haidet et al., 2012). Добавление С-пептида приводит к значительному снижению секреции цитокинов — интерлейкинов 6 и 8, макрофагальных белков воспаления 1 α и 1 β моноцитами U-937 в ответ на обработку бактериальным липополисахаридом или глюкозой в высоких концентрациях (30 мМ) (Haidet et al., 2012). Наряду с этим сильно снижается адгезия обработанных С-пептидом моноцитов с эндотелиальными клетками аорты человека (НАЕС). Подавление секреции цитокинов сопровождается снижением транслокации p50/p65 гетеродимерного комплекса NF-кВ в ядро.

Молекулярные механизмы негативной регуляции С-пептидом активности фактора NF-кВ до конца не выяснены. Предполагается, что С-пептид снижает активность IкВ-киназы, которая фосфорилирует цитозольный белок IкВ, ингибирующий активность фактора NF-кВ, в пользу чего свидетельствуют данные об ингибировании С-пептидом стимуляции фосфорилирования белка IкВ глюкозой в высоких концентрациях и бактериальным полисахаридом в гладкомышечных клетках сосудов (Cifarelli et al., 2008; Haidet et al., 2012). Показано также, что С-пептид снижает экспрессию фактора NF-кВ в гиппокампе крыс линии BB/Wor со спонтанным СД1, ингибирует продукцию провоспалительных цитокинов — интерлейкинов 1 β , 2 и 6 и ФНО α , подавляет ассоциированный с активацией NF-кВ-зависимых путей апоптоз нейрональных клеток в гиппокампе и предотвращает, таким образом, когнитивный дефицит и другие признаки диабетической энцефалопатии (Sima, Li, 2005; Sima et al., 2009).

Следует, однако, отметить, что в клетках проксиимальных канальцев почек опоссума С-пептид, действуя в наномолярных концентрациях, способен, напротив, активировать фактор NF-кВ и повышать его транслокацию в ядро (Al-Rasheed et al., 2006). Это приводит к повышению экспрессии генов выживания, в том числе гена, кодирующего белок TRAF2 (ФНО-R-ассоциированного фактора-2), что предотвращает вызываемую фактором ФНО α активацию специфичных к нему рецепторов ФНО-R1 и ФНО-R2 и блокирует активацию ФНО α воспалительных реакций, клеточной гибели и других процессов, вовлеченных в развитие диабетической нефропатии. Эти данные указывают на то, что в физиологических концентра-

циях С-пептид в зависимости от типа и функционального состояния клеток может по-разному влиять на NF-кВ-зависимые сигнальные каскады, но при этом его конечное действие состоит в подавлении воспалительных процессов и апоптоза (Hills, Brunskill, 2009).

Другой сигнальный каскад, вовлеченный в противовоспалительные эффекты С-пептида, включает в себя белок PPAR- γ , который относится к суперсемейству ядерных рецепторов, активируемых лигандрегулируемыми транскрипционными факторами (Al-Rasheed et al., 2004). PPAR- γ контролирует экспрессию генов, вовлеченных в воспалительные процессы и сосудистые поражения, в основе чего лежит его взаимодействие с регуляторными участками этих генов или с другими регуляторами транскрипции — активирующим белком AP-1, STAT-белками (signal transducers and activators of transcription) и фактором NF-кВ (Lehrke, Lazar, 2005). Так, например, PPAR- γ блокирует регуляторные эффекты активированного фактора NF-кВ и предотвращает воспалительные процессы, ведущие к поражению сосудов (Duan et al., 2008). С-пептид повышает связывание ДНК с PPAR- γ в тканях легких мышей, обработанных эндотоксином, и снижает системную воспалительную реакцию, причем этот эффект С-пептида реализуется через митогенактивируемые протеинкиназы ERK1/2 (Vish et al., 2007). Активация С-пептидом PPAR- γ может осуществляться и через посредство стимуляции ФИ-3-К (Al-Rasheed et al., 2004). Следует отметить, что инсулин также способен активировать PPAR- γ , но его эффект реализуется при более высоких концентрациях в сравнении с С-пептидом. Значение ED₅₀ для стимулирующего PPAR- γ эффекта С-пептида составляет 4 нМ, в то время как для инсулина оно равно 10 нМ. Стимуляция PPAR- γ С-пептидом и инсулином указывает на тесную взаимосвязь между регулируемыми ими сигнальными каскадами и демонстрирует тот факт, что они оба контролируют воспалительные процессы через PPAR- γ -зависимые гены (Hills, Brunskill, 2009).

С-пептид в концентрациях, существенно превышающих физиологические, может вызывать воспалительные реакции и ускорять развитие атеросклеротических изменений в сосудах, в основе чего лежит его выраженная хемотактическая активность, сходная с таковой MCP-1 и Т-лимфоцитарного хемокина RANTES. Так, С-пептид вызывает миграцию CD4 $^{+}$ -лимфоцитов и моноцитов (макрофагов) в клеточных культурах *in vitro*, а также в сосудах пациентов с СД2 и животных с экспериментальным СД2, для которых характерен повышенный уровень С-пептида (Marx et al., 2004; Walcher et al., 2004; Walcher, Marx, 2009; Vasic et al., 2012a). Показано, что хемотактический эффект С-пептида реализуется через рецептор, который через G_{i/o}-белки сопряжен с ФИ-3-К γ . В концентрации 10 нМ С-пептид активирует ФИ-3-К γ и нижележащие малые ГТФ-связывающие белки RhoA, Rac1 и Cdc42, наделенные ГТФазной активностью. Активация Rac1 и Cdc42 приводит к фосфорилированию p21-активируемой протеинкиназы (PAK), LIM домен-содержащей протеинкиназы (LIMK) и кофилинов, что вызывает инактивацию кофилинов, взаимодействующих с актином цитоскелета, и приводит к стабилизации актиновых филаментов. Активация RhoA приводит к активации Rho-киназы (ROCK) и фосфорилированию легких цепей миозина, что вызывает стимуляцию опосредованного миозином клеточного сокращения (Aleksic et al., 2009).

Иммуномодулирующее действие C-пептида

Еще в 2004 г. было обнаружено, что на ранних стадиях СД2 C-пептид локализуется в макрофагах, и было высказано предположение о том, что он может выполнять функции иммуномодулятора (Walcher et al., 2004). В дальнейшем было установлено, что C-пептид усиливает продукцию оксида азота макрофагами и модулирует, таким образом, функции иммунной системы (Lee et al., 2010). В концентрации 100 нМ C-пептид на 40 % повышал продукцию NO макрофагами мыши Raw264.7 и на 25 % усиливал секрецию NO макрофагами, обработанными бактериальным липополисахаридом. В еще большей степени C-пептид повышал продукцию NO перитонеальными макрофагами. Эти эффекты C-пептида были обусловлены повышением активности индуцибелльной формы NO-синтазы вследствие усиления экспрессии кодирующего ее гена. Исследование механизмов стимулирующего действия C-пептида на индуцибелльную NO-синтазу показало, что они включают в себя повышение уровня внутриклеточного кальция и активацию сигнального каскада, включающего в себя Janus-активирующую протеинкиназу-2 (JAK2) и белок STAT1. Селективный для катионов кальция хелатирующий агент ВАРТА-АМ блокировал экспрессию индуцибелльной NO-синтазы при стимуляции C-пептидом, в то время как кальциевый ионофор A23187, напротив, приводил к усилению этого эффекта. Показано также, что ВАРТА-АМ ингибирует вызываемое C-пептидом фосфорилирование JAK2 и STAT1. Это указывает на то, что C-пептид стимулирует JAK2—STAT1-сигнальный путь через Ca^{2+} -зависимые сигнальные механизмы (Lee et al., 2010). Следует, однако, отметить, что иммуномодулирующие эффекты C-пептида выявляются в концентрации 100 нМ, в то время как его физиологические концентрации в этом отношении неэффективны. Можно предположить, что иммуномодулирующий эффект C-пептида является транзиторным и реализуется только в условиях значительного повышения уровня C-пептида, что может происходить при сильно выраженной гиперинсулинемии в условиях СД2 и должно учитываться при разработке оптимальных схем лечения C-пептидом пациентов с СД1.

Молекулярные механизмы влияния C-пептида на функционирование нейрональных клеток в условиях периферической диабетической нейропатии

Диабетическая периферическая нейропатия (ДПН) является одним из тяжелых осложнений СД1, и, согласно исследованиям последних лет, недостаточность C-пептида и инсулина, характерная для этой формы заболевания, является главной причиной развития ДПН. Необходимо отметить, что ведущую роль в развитии ДПН ранее отводили гипергликемии, но в дальнейшем было показано, что надлежащий гликемический контроль не предотвращает развития ДПН, что указывает на отсутствие прямой взаимосвязи между гипергликемией и снижением нервной проводимости, характерной для ДПН (Sima, 2008). Ключевыми причинами ДПН при СД1 являются снижение активности Na^+,K^+ -АТФазы, которое приводит к изменению проницаемости катионов натрия в перехватах Ранье и как следствие — к уменьшению трансмембранныго потенциала, накоплению Na^+ внутри аксонов и нару-

шению нервной проводимости, а также снижение активности эндотелиальной NO-синтазы и секреции NO клетками эндотелия. Как отмечалось выше, Na^+,K^+ -АТФаза и NO-синтаза позитивно регулируются C-пептидом, что и лежит в основе терапевтического эффекта C-пептида в отношении ДПН при СД1 человека и в экспериментальных моделях этого заболевания (Sima et al., 2001; Cotter et al., 2003; Stevens et al., 2004; Zhang et al., 2007). Следует подчеркнуть, что высокие концентрации глюкозы не препятствуют терапевтическому эффекту C-пептида (Cotter et al., 2003; Stevens et al., 2004).

Установлено, что C-пептид активирует транскрипционные факторы c-jun, c-fos и CREB (cAMP-response-element-binding protein), которые регулируют экспрессию генов, кодирующих нейротрофические факторы и их рецепторы, в том числе ИФР-1, фактор роста нервов, нейротрофин-3 и receptor insulin. Нейротрофические факторы стабилизируют транскрипты нейрофиламентов и нейротубулина — важнейших компонентов цитоскелета нейрональных клеток — и контролируют, таким образом, их функциональное состояние (Kitamura et al., 2002; Li et al., 2003; Pierson et al., 2003; Kamiya et al., 2009). При СД1 и в меньшей степени при СД2 наблюдается снижение экспрессии нейротрофических факторов, приводящее к нарушению аксонального транспорта. Показано, что терапия замещающими концентрациями C-пептида приводит к полному восстановлению сильно сниженной экспрессии ИФР-1, фактора роста нервов и нейротрофина-3 у крыс линии BB/Wor с экспериментальным СД1 (Kamiya et al., 2004, 2006). Необходимо отметить, что транскрипционные факторы c-jun, c-fos и CREB также контролируют экспрессию гена, кодирующего эндотелиальную NO-синтазу, которая вовлечена в контроль над нейротрофическими процессами.

Молекулярные механизмы митогенного действия C-пептида

Диабетическая нефропатия, которая является одним из распространенных осложнений СД2, включает в себя гиперпролиферацию мезангимальных клеток почки, расположенных между капиллярами клубочков, которая является начальной стадией гломерулонефрита. Поскольку при гиперинсулинемии, типичной для СД2, уровень C-пептида в значительной степени повышен, было высказано предположение о том, что основным митогенным фактором в этом случае является C-пептид. В 2012 г. это предположение получило экспериментальные подтверждения. Показано, что в концентрации 10 нМ C-пептид в 2.5 раза повышает пролиферацию мезангимальных клеток почек человека (Vasic et al., 2012b). Митогенный эффект C-пептида реализуется через сигнальные каскады, включающие в себя Src-киназу, ФИ-3-К и ERK1/2-киназы, поскольку их селективные ингибиторы в значительной степени снижают эффект C-пептида. Обнаружено также, что уже через 5—10 мин после обработки клеток C-пептидом значительно повышается уровень фосфорилирования Src-киназы и ERK1/2-киназ, а всего через 1 мин активируется ФИ-3-К. Как известно, критической стадией клеточной пролиферации является переход от стадии G_1 к стадии S клеточного цикла, и этот переход контролируется циклином D1 и циклинзависимыми киназами, активация которых приводит к фосфорилированию супрессирующего ретинобластому белка pRb (Kato et al., 1993). По-

казано, что С-пептид через 5—10 мин инкубации стимулирует активность циклина D1 и еще через 4—6 ч существенно повышает уровень фосфорилирования белка pRb (Vasic et al., 2012b).

С-пептид также стимулирует пролиферацию гладкомышечных клеток сосудов, причем митогенный сигнальный каскад, как и в случае мезангимальных клеток почек, включает в себя Src-киназу, ФИ-3-К и ERK1/2-киназы (Walcher et al., 2006). Обнаружено также, что С-пептид в культуре гладкомышечных клеток сосудов человека вызывает фосфорилирование Src-киназы, стимулирует активность ФИ-3-К и митогенактивируемых протеинкиназ ERK1/2, а его митогенный эффект блокируется при введении коротких молекул РНК, кодирующих Src-киназу, а также с помощью ингибитора Src-киназы PP2, ингибитора гетеродимерных форм ФИ-3-К LY294002 и ингибитора ERK1/2-киназ PD98059. Активация этих протеинкиназ приводит к усилению экспрессии циклина D1 и фосфорилированию белка pRb. В концентрации 10 нМ С-пептид повышает пролиферацию гладкомышечных клеток сосудов в 2.6 раза, а в физиологической концентрации 0.5 нМ — в 1.8 раза. Митогенный эффект С-пептида на гладкомышечные клетки сосудов может быть непосредственно связан с образованием атеросклеротических бляшек и рестенозов в условиях СД2 и метаболического синдрома, для которых характерно повышение уровня С-пептида (Walcher et al., 2006; Walcher, Marx, 2009).

Заключение

Исследование молекулярных механизмов действия С-пептида на клетки-мишени показывает, что он активирует множество внутриклеточных сигнальных систем, включая фосфоинозитидные и NO-зависимые пути, каскад митогенактивируемых протеинкиназ, и, таким образом, регулирует функциональную активность широкого спектра эффекторных белков и контролируемых ими биохимических и физиологических функций. При этом показано, что результирующий эффект С-пептида зависит от его концентрации, концентрации инсулина и функционального состояния инсулиновой сигнальной системы и ряда других факторов. В наибольшей степени регуляторные эффекты С-пептида выражены в условиях СД1, для которого характерен дефицит как инсулина, так и С-пептида. Применение физиологических концентраций С-пептида в этом случае приводит к восстановлению сниженной в условиях СД1 активности Na^+,K^+ -АТФазы, ФИ-3-К, NO-синтазы, а также транскрипционных факторов, которые контролируют воспалительные процессы и окислительно-восстановительный баланс в органах и тканях, нервную проводимость, микроциркуляцию и болевую чувствительность. В то же время в условиях нормального или повышенного уровня С-пептида его регуляторные эффекты ослаблены или отсутствуют. Более того, в концентрациях, существенно превышающих физиологические, С-пептид может вызывать противоположные эффекты. Так, при физиологических концентрациях С-пептид снижает уровень цитокинов, ингибирует активируемые ими сигнальные каскады и оказывает на клетку противовоспалительное действие, в то время как в концентрации на один-два порядка выше физиологических С-пептид обладает цитокиноподобным провоспалительным действием.

Биологические эффекты С-пептида можно условно разделить на две группы. Первая группа эффектов связана со специфической биологической активностью С-пептида как гормоноподобного вещества, и эти эффекты опосредованы связыванием С-пептида с его рецептором. За специфическую биологическую активность отвечает С-концевой сегмент молекулы С-пептида, включающий в себя высококонсервативный остаток Glu27, вследствие чего активными являются как полноразмерная молекула С-пептида, так и его С-концевые фрагменты. Вторая группа эффектов связана с влиянием С-пептида на олигомеризацию инсулина, и за них отвечает N-концевая часть молекулы, включающая в себя высококонсервативный остаток Glu11. Поскольку С-пептид, образующий, как и инсулин, гомоолигомерные комплексы, имеет более высокое сродство к инсулину, соотношение между С-пептидом и инсулином в конечном итоге определяет динамическое равновесие между активными, мономерными, формами инсулина и его неактивными, гексамерными комплексами, что является одним из эффективных механизмов контроля инсулиновой сигнальной системы. Вследствие этого снижение уровня С-пептида при СД1 не только усугубляет инсулиновую недостаточность, но и снижает эффективность заместительной терапии инсулином пациентов с СД1, препятствуя диссоциации олигомерных комплексов инсулина.

Таким образом, исследование молекулярных механизмов действия С-пептида на внутриклеточные эффекторные системы, изучение физико-химической природы его комплексов и взаимоотношений между активными формами С-пептида и инсулина дает ключ к пониманию роли С-пептида в регуляции физиологических и биохимических процессов в норме и в условиях диабетической патологии, а также открывает перспективы для применения этого пептидного регулятора в лечении СД и его осложнений со стороны сердечно-сосудистой, выделительной и нервной систем.

Работа поддержана ФЦП (государственный контракт № 11411.1008700.13.088 от 13.09.2011 г.).

Список литературы

- Aleksic M., Walcher D., Giehl K., Bach H., Grub M., Durst R., Hombach V., Marx N. 2009. Signalling processes involved in C-peptide-induced chemotaxis of CD4-positive lymphocytes. *Cell. Mol. Life Sci.* 66 : 1974—1984.
- Al-Rasheed N. M., Chana R. S., Baines R. J., Willars G. B., Brunskill N. J. 2004. Ligand-independent activation of peroxisome proliferator-activated receptor-gamma by insulin and C-peptide in kidney proximal tubular cells: dependent on phosphatidylinositol 3-kinase activity. *J. Biol. Chem.* 279 : 49 747—49 754.
- Al-Rasheed N. M., Willars G. B., Brunskill N. J. 2006. C-peptide signals via $\text{G}\alpha_i$ to protect against TNF- α -mediated apoptosis of opossum kidney proximal tubular cells. *J. Amer. Soc. Nephrol.* 17 : 986—995.
- Cifarelli V., Geng X., Styche A., Lakomy R., Trucco M., Luppi P. 2011. C-peptide reduces high-glucose-induced apoptosis of endothelial cells and decreases NAD(P)H-oxidase reactive oxygen species generation in human aortic endothelial cells. *Diabetologia*. 54 : 2702—2712.
- Cifarelli V., Luppi P., Tse H. M., He J., Piganelli J., Trucco M. 2008. Human proinsulin C-peptide reduces high glucose-induced proliferation and NF- κ B activation in vascular smooth muscle cells. *Atherosclerosis*. 201 : 248—257.
- Cotter M. A., Ekberg K., Wahren J., Cameron N. E. 2003. Effects of proinsulin C-peptide in experimental diabetic neuropathy:

- vascular actions and modulation by nitric oxide synthase inhibition. *Diabetes*. 52 : 1812—1817.
- Duan S. Z., Usher M. G., Mortensen R. M. 2008. Peroxisome proliferator-activated receptor-gamma-mediated effects in the vasculature. *Circ. Res.* 102 : 283—294.
- Flatt P. R., Swanston-Flatt S. K., Hampton S. M., Bailey C. J., Marks V. 1986. Specific binding of the C-peptide of proinsulin to cultured B-cells from a transplantable rat islet cell tumor. *Biosci. Rep.* 6 : 193—199.
- Forst T., Kunt T., Pohlmann T., Goitom K., Engelbach M., Beyer J., Pfutzner A. 1998. Biological activity of C-peptide on the skin microcirculation in patients with insulin-dependent diabetes mellitus. *J. Clin. Invest.* 101 : 2036—2041.
- Galuska D., Pirkmajer S., Barres R., Ekberg K., Wahren J., Chibalin A. V. 2011. C-peptide increases Na^+/K^+ -ATPase expression via PKC- and MAP kinase-dependent activation of transcription factor ZEB in human renal tubular cells. *PLoS One*. 6 : e28294.
- Grunberger G., Qiang X., Li Z., Mathews S. T., Shriksa D., Shisheva A., Sima A. A. 2001. Molecular basis for the insulinomimetic effects of C-peptide. *Diabetologia*. 44 : 1247—1257.
- Grunberger G., Sima A. A. 2004. The C-peptide signaling. *Exp. Diabesity Res.* 5 : 25—36.
- Hach T., Forst T., Kunt T., Ekberg K., Pfützner A., Wahren J. 2008. C-peptide and its C-terminal fragments improve erythrocyte deformability in type 1 diabetes patients. *Exp. Diabetes Res.* 2008 : 730594.
- Haidet J., Cifarelli V., Trucco M., Luppi P. 2012. C-peptide reduces pro-inflammatory cytokine secretion in LPS-stimulated U937 monocytes in condition of hyperglycemia. *Inflamm. Res.* 61 : 27—35.
- Hansen A., Johansson B. L., Wahren J., von Bibra H. 2002. C-peptide exerts beneficial effects on myocardial blood flow and function in patients with type 1 diabetes. *Diabetes*. 51 : 3077—3082.
- Henriksson M., Nordling E., Melles E., Shafqat J., Ståhlberg M., Ekberg K., Persson B., Bergman T., Wahren J., Johansson J., Jörnvall H. 2005. Separate functional features of proinsulin C-peptide. *Cell. Mol. Life Sci.* 62 : 1772—1778.
- Henriksson M., Pramanik A., Shafqat J., Zhong Z., Tally M., Ekberg K., Wahren J., Rigler R., Johansson J., Jörnvall H. 2001. Specific binding of proinsulin C-peptide to intact and to detergent-solubilized human skin fibroblasts. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 280 : 423—427.
- Hills C. E., Brunskill B. J. 2009. Cellular and physiological effects of C-peptide. *Clin. Sci. (Lond.)*. 116 : 565—574.
- Ikeda K., Kawakami K. 1995. DNA binding through distinct domains of zinc-finger-homeodomain protein AREB6 has different effects on gene transcription. *Eur. J. Biochem.* 233 : 73—82.
- Inoguchi T., Battan R., Handler E., Sportsman J. R., Heath W., King G. L. 1992. Preferential elevation of protein kinase C isoform (II and diacylglycerol levels in the aorta and heart of diabetic rats: differential reversibility to glycemic control by islet cell transplantation. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*. 89 : 11 059—11 063.
- Jensen M. E., Messina E. J. 1999. C-peptide induces a concentration-dependent dilation of skeletal muscle arterioles only in presence of insulin. *Amer. J. Physiol.* 276 : H1223—H1228.
- Johansson B. L., Linde B., Wahren J. 1992a. Effects of C-peptide on blood flow, capillary diffusion capacity and glucose utilization in the exercising forearm of type 1 (insulin-dependent) diabetic patients. *Diabetologia*. 35 : 1151—1158.
- Johansson B. L., Sjöberg S., Wahren J. 1992b. The influence of human C-peptide on renal function and glucose utilization in type 1 (insulin-dependent) diabetic patients. *Diabetologia*. 35 : 121—128.
- Johansson B. L., Sundell J., Ekberg K., Jonsson C., Seppänen M., Raitakari O., Luotolahti M., Nuutila P., Wahren J., Knuuti J. 2004. C-peptide improves adenosine-induced myocardial vasodilation in type 1 diabetes patients. *Amer. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* 286 : E14—E19.
- Jörnvall H., Lindahl E., Astorga-Wells J., Lind J., Holmlund A., Melles E., Alvelius G., Nericius C., Maler L., Johansson J. 2010. Oligomerization and insulin interactions of proinsulin C-peptide: threefold relationships to properties of insulin. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 391 : 1561—1566.
- Joshua I. G., Zhang Q., Falcone J. C., Bratcher A. P., Rodriguez W. E., Tyagi S. C. 2005. Mechanisms of endothelial dysfunction with development of type 1 diabetes mellitus: role of insulin and C-peptide. *J. Cell. Biochem.* 96 : 1149—1156.
- Kamiya H., Zhang W., Ekberg K., Wahren J., Sima A. A. 2006. C-peptide reverses nociceptive neuropathy in type 1 diabetes. *Diabetes*. 55 : 3581—3587.
- Kamiya H., Zhang W., Sima A. A. 2004. C-peptide prevents nociceptive sensory neuropathy in type 1 diabetes. *Ann. Neurol.* 56 : 827—835.
- Kamiya H., Zhang W., Sima A. A. 2009. Dynamic changes of neuroskeletal proteins in DRGs underlie impaired axonal maturation and progressive axonal degeneration in type 1 diabetes. *Exp. Diabetes Res.* 2009 : 793281.
- Kato J., Matsushime H., Hiebert S. W., Ewen M. E., Sherr C. J. 1993. Direct binding of cyclin D to the retinoblastoma gene product (pRb) and pRb phosphorylation by the cyclin D-dependent kinase CDK4. *Genes Develop.* 7 : 331—342.
- Keltner Z., Meyer J. A., Johnson E. M., Palumbo A. M., Spence D. M., Reid G. E. 2010. Mass spectrometric characterization and activity of zinc-activated proinsulin C-peptide and C-peptide mutants. *Analyst*. 135 : 278—288.
- Kitamura T., Kimura K., Jung B. D., Makondo K., Okamoto S., Cañas X., Sakane N., Yoshida T., Saito M. 2001. Proinsulin C-peptide rapidly stimulates mitogen-activated protein kinases in Swiss 3T3 fibroblasts: requirement of protein kinase C, phosphoinositide 3-kinase and pertussis toxin-sensitive G-protein. *Biochem. J.* 355 : 123—129.
- Kitamura T., Kimura K., Jung B. D., Makondo K., Sakane N., Yoshida T., Saito M. 2002. Proinsulin C-peptide activates cAMP response element-binding proteins through the p38 mitogen-activated protein kinase pathway in mouse lung capillary endothelial cells. *Biochem. J.* 366 : 737—744.
- Kitamura T., Kimura K., Makondo K., Furuya D. T., Suzuki M., Yoshida T., Saito M. 2003. Proinsulin C-peptide increases nitric oxide production by enhancing mitogen-activated protein-kinase-dependent transcription of endothelial nitric oxide synthase in aortic endothelial cells of Wistar rats. *Diabetologia*. 46 : 1698—1705.
- Kowluru R., Jirousek M. R., Stramm L., Farid N., Engerman R. L., Kern T. S. 1998. Abnormalities of retinal metabolism in diabetes or experimental galactosemia. V. Relationship between protein kinase C and ATPases. *Diabetes*. 47 : 464—469.
- Lee S. K., Lee J. O., Kim J. H., Jung J. H., You G. Y., Park S. H., Kim H. S. 2010. C-peptide stimulates nitrites generation via the calcium-JAK2/STAT1 pathway in murine macrophage Raw264.7 cells. *Life Sci.* 86 : 863—868.
- Lehrke M., Lazar M. A. 2005. The many faces of PPARγ. *Cell.* 123 : 993—999.
- Li Z. G., Qiang X., Sima A. A., Grunberger G. 2001. C-peptide attenuates protein tyrosine phosphatase activity and enhances glycogen synthesis in L6 myoblasts. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 280 : 615—619.
- Li Z. G., Zhang W., Sima A. A. 2003. C-peptide enhances insulin-mediated cell growth and protection against high glucose-induced apoptosis in SH-SY5Y cells. *Diabetes Metab. Res. Rev.* 19 : 375—385.
- Lindahl E., Nyman U., Melles E., Sigmundsson K., Ståhlberg M., Wahren J., Obrink B., Shafqat J., Joseph B., Jörnvall H. 2007. Cellular internalization of proinsulin C-peptide. *Cell. Mol. Life Sci.* 64 : 479—486.
- Lindahl E., Nyman U., Zaman F., Palmberg C., Cascante A., Shafqat J., Takigawa M., Savendahl L., Jörnvall H., Joseph B. 2010. Proinsulin C-peptide regulates ribosomal RNA expression. *J. Biol. Chem.* 285 : 3462—3469.
- Luppi P., Cifarelli V., Tse H., Piganelli J., Trucco M. 2008. Human C-peptide antagonises high glucose-induced endothelial dysfunction through the nuclear factor-κB pathway. *Diabetologia*. 51 : 1534—1543.

- Luppi P., Geng X., Cifarelli V., Drain P., Trucco M. 2009. C-peptide is internalised in human endothelial and vascular smooth muscle cells via early endosomes. *Diabetologia*. 52 : 2218—2228.
- Marx N., Walcher D., Raichle C., Aleksic M., Bach H., Grub M., Hombach V., Libby P., Zieske A., Homma S., Strong J. 2004. C-peptide colocalizes with macrophages in early arteriosclerotic lesions of diabetic subjects and induces monocyte chemotaxis *in vitro*. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 24 : 540—545.
- Medawala W., McCahill P., Giebink A., Meyer J., Ku C. J., Spence D. M. 2009. A molecular level understanding of zinc activation of C-peptide and its effects on cellular communication in the bloodstream. *Rev. Diabet. Stud.* 6 : 148—158.
- Meyer J. A., Froelich J. M., Reid G. E., Karunaratne W. K., Spence D. M. 2008. Metal-activated C-peptide facilitates glucose clearance and the release of a nitric oxide stimulus via the GLUT1 transporter. *Diabetologia*. 51 : 175—182.
- Munte C. E., Vilela L., Kalbitzer H. R., Garratt R. C. 2005. Solution structure of human proinsulin C-peptide. *FEBS J.* 272 : 4284—4293.
- Nerelius C., Alvelius G., Jörnvall H. 2010. N-terminal segment of proinsulin C-peptide active in insulin interaction/desaggregation. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 403 : 462—467.
- Nordquist L., Moe E., Sjöquist M. 2007. The C-peptide fragment EVARQ reduces glomerular hyperfiltration in streptozocin-induced diabetic rats. *Diabetes Metab. Res. Rev.* 23 : 400—405.
- Nordquist L., Shimada K., Ishii T., Furuya D. T., Kamikawa A., Kimura K. 2010. Proinsulin C-peptide prevents type-1 diabetes-induced decrease of renal Na⁺,K⁺-ATPase α_1 -subunit in rats. *Diabetes Metab. Res. Rev.* 26 : 193—199.
- Ohtomo Y., Bergman T., Johansson B. L., Jörnvall H., Wahren J. 1998. Differential effects of proinsulin C-peptide fragments on Na⁺,K⁺-ATPase activity of renal tubule segments. *Diabetologia*. 41 : 287—291.
- Pasceri V., Wu H. D., Willerson J. T., Yeh E. T. 2000. Modulation of vascular inflammation *in vitro* and *in vivo* by peroxisome proliferator-activated receptor- γ activators. *Circulation*. 101 : 235—238.
- Pierson C. R., Zhang W., Sima A. A. 2003. Proinsulin C-peptide replacement in type 1 diabetic BB/Wor-rats prevents deficits in nerve fiber regeneration. *J. Neuropathol. Exp. Neurol.* 62 : 765—779.
- Pramanik A., Ekberg K., Zhong Z., Shafqat J., Henriksson M., Jansson O., Tibell A., Tally M., Wahren J., Jörnvall H., Rigler R., Johansson J. 2001. C-peptide binding to human cell membranes: importance of Glu²⁷. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 284 : 94—98.
- Rigler R., Pramanik A., Jonasson P., Kratz G., Jansson O. T., Nygren P., Ståhl S., Ekberg K., Johansson B., Uhlén M., Jörnvall H., Wahren J. 1999. Specific binding of proinsulin C-peptide to human cell membranes. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*. 96 : 13 318—13 323.
- Scalia R., Coyle K. M., Levine B. J., Booth G., Lefer A. M. 2000. C-peptide inhibits leukocyte-endothelium interaction in the microcirculation during acute endothelial dysfunction. *FASEB J.* 14 : 2357—2364.
- Shafqat J., Juntti-Berggren L., Zhong Z., Ekberg K., Köhler M., Berggren P. O., Johansson J., Wahren J., Jörnvall H. 2002. Proinsulin C-peptide and its analogues induce intracellular Ca²⁺ increases in human renal tubular cells. *Cell. Mol. Life Sci.* 59 : 1185—1189.
- Shafqat J., Melles E., Sigmundsson K., Johansson B. L., Ekberg K., Alvelius G., Henriksson M., Johansson J., Wahren J., Jörnvall H. 2006. Proinsulin C-peptide elicits disaggregation of insulin resulting in enhanced physiological insulin effects. *Cell. Mol. Life Sci.* 63 : 1805—1811.
- Sima A. A. 2008. The heterogeneity of diabetic neuropathy. *Front Biosci.* 13 : 4809—4816.
- Sima A. A., Li Z. G. 2005. The effect of C-peptide on cognitive dysfunction and hippocampal apoptosis in type 1 diabetic rats. *Diabetes*. 54 : 1497—1505.
- Sima A. A., Zhang W., Kreipke C. W., Rafols J. A., Hofman W. H. 2009. Inflammation in diabetic encephalopathy is prevented by C-peptide. *Rev. Diabet. Stud.* 6 : 37—42.
- Sima A. A., Zhang W., Sugimoto K., Henry D., Li Z., Wahren J., Grunberger G. 2001. C-peptide prevents and improves chronic Type I diabetic polyneuropathy in the BB/Wor rat. *Diabetologia*. 44 : 889—897.
- Steiner D. F., Cunningham D., Spigelman L., Aten B. 1967. Insulin biosynthesis: evidence for a precursor. *Science*. 157 : 697—700.
- Stevens M. J., Zhang W., Li F., Sima A. A. 2004. C-peptide corrects endoneurial blood flow but not oxidative stress in type 1 BB/Wor rats. *Amer. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* 287 : E497—E505.
- Sugden P. H., Clerk A. 2005. Endothelin signalling in the cardiac myocyte and its pathophysiological relevance. *Curr. Vasc. Pharmacol.* 3 : 343—351.
- Tak P. P., Firestein G. S. 2001. NF- κ B: a key role in inflammatory diseases. *J. Clin. Invest.* 107 : 7—11.
- Tsimaratos M., Roger F., Chabardes D., Mordasini D., Hasler U., Doucet A., Martin P. Y., Féralle E. 2003. C-peptide stimulates Na⁺,K⁺-ATPase activity via PKC α in rat medullary thick ascending limb. *Diabetologia*. 46 : 124—131.
- Vague P., Coste T. C., Jannat M. F., Raccah D., Tsimaratos M. 2004. C-peptide, Na⁺,K⁺-ATPase, and diabetes. *Exp. Diabetes Res.* 5 : 37—50.
- Vasic D., Marx N., Sukhova G., Bach H., Durst R., Grub M., Hausauer A., Hombach V., Rottbauer W., Walcher D. 2012a. C-peptide promotes lesion development in a mouse model of arteriosclerosis. *J. Cell. Mol. Med.* 16 : 927—935.
- Vasic D., Spyranitis A., Durst R., Bach H., Vogt S., Rottbauer W., Walcher D. 2012b. C-peptide induces human renal mesangial cell proliferation *in vitro*, activating Src-kinase, PI-3 kinase and ERK1/2. *Mol. Cell. Endocrinol.* 351 : 337—341.
- Vish M. G., Mangeshkar P., Piraino G., Denenberg A., Hake P. W., O'Connor M., Zingarelli B. 2007. Proinsulin c-peptide exerts beneficial effects in endotoxic shock in mice. *Crit. Care Med.* 35 : 1348—1355.
- Wahren J., Kallas A., Sima A. A. 2012. The clinical potential of C-peptide replacement in type 1 diabetes. *Diabetes*. 61 : 761—772.
- Walcher D., Aleksic M., Jerg V., Hombach V., Zieske A., Homma S., Strong J., Marx N. 2004. C-peptide induces chemotaxis of human CD4-positive cells: involvement of pertussis toxin-sensitive G-proteins and phosphoinositide 3-kinase. *Diabetes*. 53 : 1664—1670.
- Walcher D., Babiak C., Poletek P., Rosenkranz S., Bach H., Betz S., Durst R., Grub M., Hombach V., Strong J., Marx N. 2006. C-peptide induces vascular smooth muscle cell proliferation: involvement of SRC-kinase, phosphatidylinositol 3-kinase, and extracellular signal-regulated kinase 1/2. *Circ. Res.* 99 : 1181—1187.
- Walcher D., Marx N. 2009. C-peptide in the vessel wall. *Rev. Diabet. Stud.* 6 : 180—186.
- Wallerath T., Kunt T., Forst T., Closs E. I., Lehmann R., Flohr T., Gabriel M., Schäfer D., Göpfert A., Pfützner A., Beyer J., Förstermann U. 2003. Stimulation of endothelial nitric oxide synthase by proinsulin C-peptide. *Nitric Oxide*. 9 : 95—102.
- Zhang W., Kamiya H., Ekberg K., Wahren J., Sima A. A. 2007. C-peptide improves neuropathy in type 1 diabetic BB/Wor-rats. *Diabetes Metab. Res. Rev.* 23 : 63—70.
- Zhong Z., Davidescu A., Ehrén I., Ekberg K., Jörnvall H., Wahren J., Chibalin A. V. 2005. C-peptide stimulates ERK1/2 and JNK MAP kinases via activation of protein kinase C in human renal tubular cells. *Diabetologia*. 48 : 187—197.
- Zhong Z., Kotova O., Davidescu A., Ehrén I., Ekberg K., Jörnvall H., Wahren J., Chibalin A. V. 2004. C-peptide stimulates Na⁺,K⁺-ATPase via activation of ERK1/2 MAP kinases in human renal tubular cells. *Cell. Mol. Life Sci.* 61 : 2782—2790.

C-PEPTIDE STRUCTURE, FUNCTIONS AND MOLECULAR MECHANISMS OF ACTION

A. O. Shpakov,¹ O. K. Granstrem²¹ I. M. Sechenov Institute of Evolutionary Physiology and Biochemistry RASand ² CJSC «Pharm-Holding», St. Petersburg;¹ e-mail: alex_shpakov@list.ru

C-peptide, which is formed during the biosynthesis of insulin, has long been considered as a biologically inactive substance. However in the recent years there is convincing evidence that the deficit of C-peptide in type 1 diabetes mellitus (DM) or its excess in DM2 lead to the development of disorders in the cardiovascular, nervous, excretory, and other systems of organism. It is shown that C-peptide in the physiological concentrations has anti-inflammatory, immunomodulatory and neuroprotective effects, so that it and its synthetic analogs can be widely used to treat diabetic patients and to prevent DM complications diabetes. To effectively use C-peptide in medicine it is necessary to study its structural-functional organization and the molecular mechanisms of regulatory action of C-peptide on the fundamental cellular processes. It is established that C-peptide coupled with $G_{i/o}$ protein-coupled receptors of the serpentine type regulates the functional activity of many intracellular signaling pathways, which include phospholipase C β , different forms of protein kinase C, phosphatidylinositol 3-kinases and mitogen-activated protein kinases, endothelial NO-synthase, Na $^{+}$ /K $^{+}$ -ATPase, a wide range of transcription factors and nuclear receptors. C-peptide controls the stability of the insulin hexamer complexes, and, thus, affects on the activity of insulin and insulin-regulated signaling pathways. The present review analyse the current state of the problem of structural-functional organization of C-peptide and its mechanism of action on the intracellular signaling pathways, as well as the prospects for the use of C-peptide in the fundamental biology and clinical medicine.

Key words: Na $^{+}$ /K $^{+}$ -ATPase, inflammation, heterotrimeric G protein, diabetes, immunomodulator, insulin, mitogen-activated protein kinase, C-peptide, NO-synthase, factor NF- κ B, phospholipase C.