

СТРЕСС ЭНДОПЛАЗМАТИЧЕСКОГО РЕТИКУЛУМА ПРИ ДИАБЕТИЧЕСКОЙ РЕТИНОПАТИИ И ПУТИ ЕГО КОРРЕКЦИИ

© A. O. Шпаков,¹ Ю. Р. Рыжсов

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

Санкт-Петербург, 194223;

¹*электронный адрес: alex_shpakov@list.ru*

Диабетическая ретинопатия (ДР) является одним из наиболее распространенных осложнений сахарного диабета (СД). Среди молекулярных механизмов, ведущих к развитию ДР, важное место занимает стресс эндоплазматического ретикулума (ЭР), который при СД выявлен в нейронах сетчатки и перипитах ретинальных капилляров. Нарушение процессов фолдинга и созревания белков в ЭР приводит к запуску специфического ответа ЭР, называемого реакцией несвернутых белков (UPR), который вызывает рефолдинг белков или их деградацию. В настоящее время выделяют три основных UPR-пути, включающих в себя в качестве сенсорных компонентов зависимый от инозитола фермент-1 (IRE1), транскрипционный фактор-6 (ATF6) и сенсорную киназу PERK, причем все они вовлечены в патологические изменения в сетчатке при ДР, индуцируя в ней воспалительные реакции, апоптотические процессы и нарушения функций сосудов. В обзоре рассмотрены функциональные изменения в IRE1-, ATF6- и PERK-зависимых UPR-путях в сетчатке при СД, а также факторы, которые способствуют развитию в ретинальных клетках стресса ЭР, среди которых провоспалительные факторы, фактор роста эндотелия сосудов и молекулы межклеточной адгезии. Обсуждаются пути коррекции стресса ЭР в сетчатке при СД, которые включают в себя использование низкомолекулярных шаперонов, в том числе фенофибриновой кислоты, повышение активности шапероноподобного белка p58IPK, а также восстановление активности гормональных сигнальных систем в сетчатке, функции которых нарушаются при ДР.

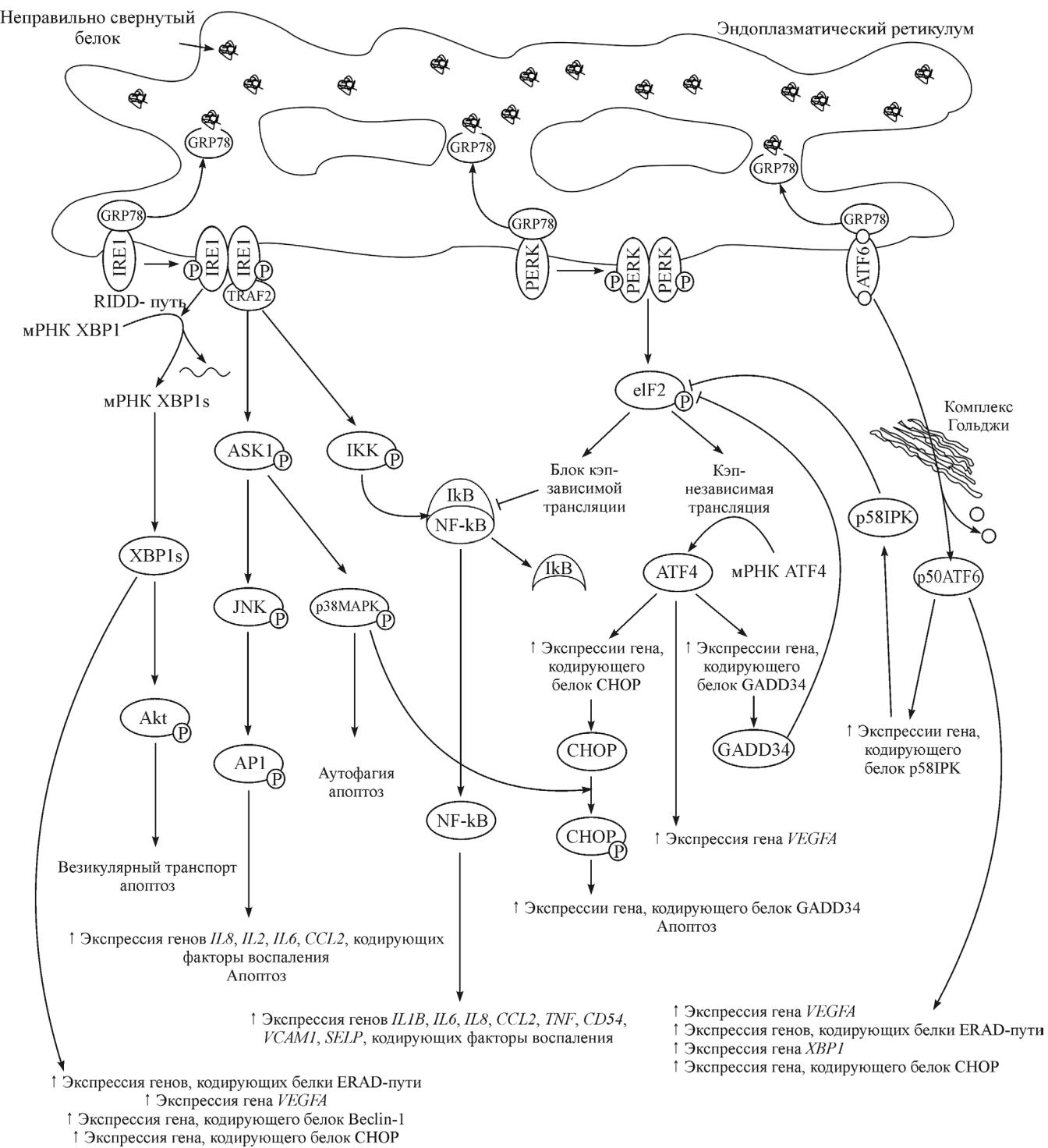
Ключевые слова: диабетическая ретинопатия, стресс эндоплазматического ретикулума, реакция несвернутых белков, шаперон, киназа PERK, гормональная сигнальная система.

Принятые сокращения: ДР — диабетическая ретинопатия, ГПП-1 — глюкагоноподобный пептид-1, СД — сахарный диабет, ЭР — эндоплазматический ретикулум, ATF4 и ATF6 — факторы-4 и -6, активирующие транскрипцию (activating transcription factors 4 and 6), CHOP — транскрипционный фактор (C/EBP homologous protein), eIF2 — эукариотический фактор-2 инициации трансляции (eukaryotic initiation factor-2), GRP78 — 78 кДа глюкозо-регулируемый белок 78 (78 kDa glucose-regulated protein), ICAM-1 — молекула-1 межклеточной адгезии (intercellular adhesion molecule-1), ИкБ — ингибитор ядерного фактора кБ, IRE1 — зависимый от инозитола фермент-1 (inositol-requiring enzyme-1), JNK — стрессактивируемая c-Jun NH₂-терминальная протеинкиназа (c-Jun NH₂-terminal kinase), NMDA — мезотилен-D-аспартат, PERK — сенсорная ретикулярная киназа, подобная РНК-зависимой протеинкиназе (protein kinase RNA (PKR)-like ER kinase), TNF- α — фактор- α некроза опухолей (tumor necrosis factor- α), TRAF2 — фактор-2, ассоциированный с рецептором фактора некроза опухолей (tumor necrosis factor receptor-associated factor 2), UPR — реакция несвернутых белков (unfolded protein response), VEGF — фактор роста эндотелия сосудов (vascular endothelial growth factor), XBP1 — UPR-специфичный транскрипционный фактор (X-Box binding protein 1).

Диабетическая ретинопатия (ДР) является одним из наиболее распространенных осложнений сахарного диабета (СД) 1-го и 2-го типов и встречается в среднем у 40 % пациентов в возрасте старше 40 лет с диагностированной диабетической патологией (Congdon et al., 2004; Kempen et al., 2004). При отсутствии должного лечения у половины диабетических больных с ДР в течение пяти лет происходит потеря зрения (Ferris, 1994). Даже при надлежащем метаболическом контроле в среднем у 20 % диабетических больных с продолжительностью заболевания 30 лет и более развивается пролиферативная ДР, которая характеризуется патологическим ангиогенезом во внутренних слоях сетчатки и в стекловидном теле с

образованием ломких сосудов и развитием вследствие этого геморрагий, что в конечном итоге приводит к слепоте (Nathan et al., 2009). Распространенность этой формы ДР значительно повышается у пациентов с плохим гликемическим контролем, нарушениями функций сердечно-сосудистой системы, дислипидемией. Таким образом, проблема ДР имеет большое социальное значение и требует глубокого изучения молекулярных механизмов развития этой патологии и поиска эффективных путей, направленных на предотвращение и лечение этого заболевания.

В настоящее время можно выделить две основные причины, которые ведут к развитию ДР. Одна из них со-



UPR-сигнальные пути в сетчатке, их функциональное взаимодействие и регуляторные влияния на генную экспрессию.

IRE1 — инозитолзависимый фермент-1 (inositol-requiring enzyme-1); PERK — ретикулярная киназа, подобная РНК-зависимой протеинкиназе (protein kinase R (PKR)-like endoplasmic reticulum kinase); ATF4 и ATF6 — факторы-4 и -6, активирующие транскрипцию (activating transcription factors 4 and 6); p50ATF6 — укороченная p50-форма транскрипционного фактора ATF6; GRP78 — 78 кДа глюкозорегулируемый белок (78 kDa glucose-regulated protein); TRAF2 — фактор-2, ассоциированный с рецептором фактора некроза опухолей (tumor necrosis factor receptor-associated factor 2); RIDD — IRE1-зависимая деградация мРНК (regulated IRE1-dependent decay of mRNA); XBP1 — X-бокс-связывающий белок 1 (X-box binding protein 1); XBP1s-укороченный вариант транскрипционного фактора XBP1; Akt — сериноваяAkt-киназа (protein kinase B); ERAD — ассоциированная с ЭР деградация белков (endoplasmic reticulum-associated protein degradation); Beclin-1 — фактор, регулирующий аутофагию; ASK1 — регулируемая апоптотическими сигналами протеинкиназа-1 (apoptosis signal-regulating kinase 1); JNK — стрессактивируемая c-Jun N-терминальная киназа (c-Jun N-terminal kinase); AP1 — активирующий белок 1 (activator protein 1); IKK — киназа ингибитора IkB (IkB kinase); IkB — ингибитор фактора NF-кБ (inhibitor of kappa-light-chain-enhancer of activated B cells); NF-кБ — ядерный фактор кБ (nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells); p38MAPK — p38 митогенактивируемая протеинкиназа (p38 mitogen-activated protein kinase); eIF2 — эукариотический фактор-2 инициации трансляции (eukaryotic initiation factor 2); CHOP — C/EBP гомологичный белок (C/EBP homologous protein); GADD34 — PERK-индукцируемая регуляторная субъединица протеинфосфатазы PPIC (growth arrest and DNA damage-inducible protein); p58IPK — шапероноподобный 58 кДа-белок со свойствами ингибитора протеинкиназы (58-kDa inhibitor of the interferon-induced double-stranded RNA-activated protein kinase).

стоит в запуске нейродегенеративных процессов в сетчатке (Ola et al., 2012, 2013), в то время как другая — в нарушении проницаемости внутреннего гематоретинального барьера (Zhang et al., 2014). При этом большинство авторов считают, что триггерным звеном обоих путей раннего патогенеза ДР является стресс эндоплазматического ретикулума (ЭР), который выявлен как в нейронах сетчатки, так и в перцикатах ретинальных капилляров (Li et al., 2011a). Следует отметить, что стресс ЭР играет ключевую роль в развитии не только ДР, но и ряда других осложнений СД 1-го и 2-го типов (Ozcan et al., 2004, 2006; Sims-Robinson et al., 2012; Gorbatyuk, Gorbatyuk, 2013; Ma et al., 2014; Coucha et al., 2015). Как известно, ЭР представляет собой клеточную органеллу, в которой происходят фолдинг и созревание белков. В случае, когда эти процессы нарушены, запускается специфический ответ ЭР, называемый реакцией несвернутых белков (*unfolded protein response*, UPR), который стимулирует повторную укладку белков (рефолдинг) или их деградацию, так называемую ЭР-ассоциированную деградацию белков (*ER-assosiated protein degradation*, ERAD) (Hotamisligil, 2010). Регулируя сворачивание и деградацию белка, UPR приводит к снижению стресса ЭР и восстановлению гомеостаза в цистернах ЭР, но в случае длительного и сильно выраженного стресса ЭР адаптивные возможности UPR исчерпываются. Это приводит к переключению UPR на активацию проапоптотических каскадов, следствием чего является гибель клеток, в которых нарушены процессы фолдинга и рефолдинга белков (Jing et al., 2012). Вследствие этого UPR определяет дальнейшую судьбу клетки, приводя к ее гибели в том случае, когда стресс ЭР не может быть своевременно преодолен (Walter, Ron, 2011).

В настоящее время выделяют три основных пути, по которым реализуется UPR, причем все они вовлечены в патологические изменения в сетчатке при ДР, индуцируя в ней воспалительные реакции, активацию апоптотических процессов, изменения функций сосудов (Li et al., 2009a; Li et al., 2011a; Tang et al., 2011; Chen et al., 2012; Fu et al., 2012; Zhong et al., 2012; Du et al., 2013). Каждый из путей, инициирующих UPR, начинается с сенсорного белка, который локализован в мембране ЭР, будучи ориентирован как в его цитоплазматическое, так и в люменальное пространство, и специфически активируется в условиях стресса ЭР (см. рисунок). Первый путь в качестве сенсора стресса ЭР включает в себя зависимый от инозита фермент-1 (*inositol-requiring enzyme-1*, IRE1). Второй путь начинается с сенсорного белка — фактора-6, активирующего транскрипцию (*activating transcription factor-6*, ATF6), третий начинается с сенсорной киназы PERK (*protein kinase RNA(PKR)-like ER kinase*). В покоящихся клетках каждый из приведенных выше сенсорных белков связан с шапероном — глукозорегулируемым белком 78 (*glucose-regulated protein 78*, GRP78), который также называют иммуноглобулинсвязывающим белком (*immunoglobulin binding protein*, BiP), что предотвращает активацию всех трех путей UPR. В условиях стресса ЭР белок GRP78 диссоциирует от сенсорных белков и связывается с неправильно свернутыми формами белков, способствуя их рефолдингу, вследствие чего сенсорные белки IRE1, ATF6 и PERK, находясь в свободном состоянии, активируются и запускают механизмы UPR, причем запуск всех трех путей, инициирующих UPR, может осуществляться независимо и приводить к изменению экспрессии различных паттернов генов (Ron, Walter, 2007).

В настоящее время в условиях ДР в наибольшей степени изучен путь, включающий в себя PERK, в то время как IRE1- и ATF6-зависимые пути изучены в меньшей степени, хотя также играют исключительно важную роль в развитии патологических изменений в сетчатке в условиях СД.

PERK-сигнальный путь

Сенсорная киназа PERK активируется вследствие аутофосфорилирования и олигомеризации и в дальнейшем фосфорилирует α -субъединицу eIF2 по остатку Ser⁵¹ (Harding et al., 1999). Это вызывает агрегацию eIF2 α с его нуклеотид-обменным фактором eIF2A, что ведет к активации нуклеотид-обменной активности eIF2 α и способствует его переходу в активную, ГТФ-связанную форму. Результатом являются подавление кэпзависимой трансляции большого числа белков и значительное снижение притока новых белков в цистерны ЭР (см. рисунок). Наряду с этим активируется кэпнезависимая трансляция, что приводит к повышению уровня транскрипционного фактора ATF4, ответственного за экспрессию широкого спектра генов, вовлеченных в стресс ЭР (Harding et al., 2003; Ron, Walter, 2007). Механизм действия ATF4 включает в себя его связывание с цАМФ-зависимым регулятором ответа CRE (cAMP-response element) в промоторных и энхансерных участках генов, кодирующих белки, играющие ключевую роль в воспалительных процессах, апоптозе и окислительном стрессе (Steiger et al., 2004). Наибольшее значение имеет ATF4-зависимая активация экспрессии гена транскрипционного фактора CHOP (C/EBP homologous protein), контролирующего генную экспрессию для множества апоптотических белков (Steiger et al., 2004). Наряду с этим ATF4 усиливает экспрессию гена для белка GADD34 (growth arrest and DNA-damage-inducible 34), являющегося PERK-индукцируемой регуляторной субъединицей протеинфосфатазы PPIC, которая дефосфорилирует α -субъединицу eIF2 и, таким образом, по механизму обратной связи подавляет PERK/eIF2 α -путь (Tsaytler et al., 2011). Еще одним результатом подавления кэпзависимой трансляции является уменьшение количества ингибитора ядерного фактора-кВ (I-кВ) и соответственно увеличение количества свободного транскрипционного фактора NF-кВ, который является интегратором провоспалительных каскадов в клетке (Ma et al., 2014).

ATF6-сигнальный путь

ATF6 представляет собой транскрипционный фактор, содержащий спирализованный домен с остатками лейцина на одной из его сторон, так называемую лейциновую молнию (*basic leucine zipper*, bZIP), который в отличие от PERK и IRE1 после активации не остается в мемbrane ЭР, а упаковывается в транспортные везикулы и переносится в комплекс Гольджи (Haze et al., 1999; Schindler, Schekman, 2009). Оказываясь в комплексе Гольджи, ATF6 подвергается протеолитическому расщеплению по двум сайтам и лишается двух структурных доменов — трансмембранный и люменальный (Ye et al., 2000) (см. рисунок). Это позволяет укороченной p50-форме ATF6 транспортироваться в ядро, где она связывается с промоторными участками генов, кодирующими шапероны и ферменты,

вовлеченные в стресс ЭР, такие как GRP78, GRP94, протеиндисульфидизомераза (Haze et al., 1999; Wang et al., 2000; Vekich et al., 2012). Наряду с этим ATF6 регулирует экспрессию транскрипционных факторов XBP1 (X-Box binding protein 1) и CHOP, а также шапероноподобного белка p58IPK, ингибитора PERK, которые являются основными компонентами путей IRE1/XBP1 и PERK/eIF2 α /ATF4 (Ron, Walter, 2007; Rutkowski et al., 2007; Wu et al., 2007; Yamamoto et al., 2007; Borishkin et al., 2015). Эти данные свидетельствуют о тесном взаимодействии UPR-сигнальных путей, что обеспечивает интегративные связи между ними на уровне регуляции генной экспрессии.

IRE1-сигнальный путь

Этот путь является наиболее древним и консервативным и функционирует в клетках всех представителей эукариот от дрожжевых грибов до высших позвоночных (Ron, Walter, 2007). У млекопитающих выявлены две изоформы сенсорных белков IRE1 — IRE1 α и IRE1 β , причем белок IRE1 α распространен во всех типах клеток, в то время как распределение белка IRE1 β характеризуется тканевой специфичностью (Tirasophon et al., 1998; Wang et al., 1998). Обе изоформы белка IRE1 представляют собой бифункциональные белки, которые функционируют одновременно как мембранны-связанная протеинкиназа и эндогенная рибонуклеаза (Zhang et al., 2001; Calfon et al., 2002). После диссоциации от белка GRP78 локализованные в люменальном пространстве ЭР N-концевые домены двух молекул IRE1 взаимодействуют между собой, что приводит к образованию димера, активации киназной активности белка IRE1 и его аутофосфорилированию по цитоплазматическому киназному домену (см. рисунок). Результатом этого является активация С-концевого эндорибонуклеазного домена IRE1, который удаляет инtron длиной 26 нуклеотидов из мРНК, кодирующую UPR-специфичный транскрипционный фактор XBP1, что приводит к сдвигу рамки считывания для гена *Xbp1* и генерирует сплайсинговый вариант этого гена (*Xbp1s*) (Ali et al., 2011). Соответствующий ему белок XBP1s характеризуется повышенной устойчивостью к деградации и является мощным активатором экспрессии генов, вовлеченных в UPR (Lee et al., 2003; Yoshida et al., 2003; Kanemoto et al., 2005). Показано, что белок XBP1s участвует в регуляции синтеза, деградации и фолдинга белков в ЭР, аутофагии, везикулярного транспорта и окислительно-восстановительного баланса, что указывает на его центральную роль в поддержании гомеостаза ЭР и обеспечении выживаемости клеток (Walter, Ron, 2011).

Установлено также, что протеинкиназа IRE1 активирует стрессактивируемую протеинкиназу JNK (c-Jun NH₂-terminal kinase) (см. рисунок). В основе этого лежит транслокация фактора-2, ассоциированного с рецептором фактора некроза опухолей (tumor necrosis factor receptor-associated factor 2, TRAF2), к комплексу IRE1—JNK (Urano et al., 2000). Образование комплекса IRE1—TRAF2 также приводит к фосфорилированию киназы ингибитора kB (IkB kinase, IKK), что вызывает стимуляцию ее функциональной активности в отношении IkB, способствует диссоциации ядерного фактора kB из его комплекса с IkB и переходу этого фактора в активное состояние (Ma et al., 2014).

Стресс ЭР, UPR-пути и диабетическая ретинопатия

Последствия активации UPR-сигнальных путей были обнаружены как в сетчатке больных СД, так и в сетчатке животных с экспериментальными моделями ДР. Так, в сетчатке диабетических животных с признаками ДР отмечали усиление всех трех UPR-путей (Li et al., 2009a; Li et al., 2011a; Tang et al., 2011; Chen et al., 2012). Повышение уровня ATF6 и GRP78 было обнаружено в образцах сетчатки у пациентов с СД 2-го типа и непролиферативной ДР (Fu et al., 2012; Du et al., 2013). Следует отметить, что сетчатка и в первую очередь Мюллеровы клетки сетчатки, более чувствительны к гипергликемии и резким колебаниям уровня глюкозы, характерным для диабетической патологии, в сравнении с ЦНС, что иллюстрируется более выраженными изменениями в них уровня маркеров стресса ЭР и активности UPR-путей (Lind et al., 2013).

Основными процессами, которые развиваются в сетчатке в условиях ДР и функционально связаны со стрессом ЭР и UPR-сигнальными путями, являются активация провоспалительных факторов и повышение уровня и активности фактора роста эндотелия сосудов (vascular endothelial growth factor, VEGF), это ведет к нарушению функционирования гематоринального барьера, повышению проницаемости сосудов сетчатки, неоваскуляризации и усилинию активности проапоптотических каскадов, что в конечном итоге вызывает дегенерацию клеток эндотелия сосудов, нейронов и глии сетчатки (Ma et al., 2014).

Маркерами воспалительных процессов в сетчатке при СД является повышение уровня VEGF, фактора- α некроза опухолей (tumor necrosis factor- α , TNF- α), молекул межклеточной адгезии, в том числе ICAM-1 (intercellular adhesion molecule-1), а также интерлейкинов-6 и -8 (Yoshimura et al., 2009). Повышение экспрессии TNF- α , VEGF и ICAM-1 и усиление стресса ЭР отмечали в условиях *in vitro* при инкубации клеток эндотелия сетчатки в среде с высокой концентрацией глюкозы, что моделирует состояние гипергликемии при СД (Chen et al., 2012). Привоспалительные факторы, VEGF и адгезионные молекулы усиливали взаимодействие между эндотелиальными клетками и лейкоцитами, ослабляли прочные контакты между клетками эндотелия сосудов, что приводило к повышению проницаемости сосудов, накоплению экссудата в сетчатке и в конечном итоге вызывало отек макулы (Yoshimura et al., 2009). Подавление стресса ЭР в сетчатке диабетических животных с помощью химического шаперона — 4-фенилмасляной кислоты — и в культуре эндотелиальных клеток, экспонированных с высокими концентрациями глюкозы, с помощью ингибиторов транскрипционного фактора STAT3, ответственного за инициацию стресса ЭР, или с помощью ингибирования фактора ATF4 приводило к нормализации уровня TNF- α , VEGF и ICAM-1 и подавляло воспалительные процессы в сетчатке (Li et al., 2009a; Chen et al., 2012). Сходный эффект наблюдали при ингибировании стресса ЭР и активности транскрипционного фактора ATF4 в первичной культуре Мюллеровых клеток сетчатки, помещенных в среду с высоким содержанием глюкозы (Zhong et al., 2012). Мюллеровы клетки представляют собой высокоспециализированные гигантские глиальные клетки сетчатки, которые проходят через все ее слои и выполняют опорную и изолирующую функции. Они являются

ся основным источником VEGF, отвечающего за ангиогенез и ангиогенное ремоделирование сосудов сетчатки (Pierce et al., 1995). Показано также, что прекондиционирование эндотелиальных клеток сетчатки человека с низкими концентрациями индукторов стресса ЭР приводило к повышению экспрессии транскрипционного фактора XBP1, что в дальнейшем полностью блокировало стимулирующее влияние фактора TNF- α на активность фактора NF- κ B и экспрессию адгезионных молекул ICAM-1 и VCAM-1 (vascular cell adhesion molecule 1). Ингибирование активности TNF- α предотвращало адгезию лейкоцитов и приводило к восстановлению проницаемости стенок сосудов и лейкостаза (Li et al., 2011b).

Поскольку неоваскуляризация сетчатки в условиях длительной и тяжелой диабетической патологии при отсутствии должного лечения может привести к кровоизлиянию в стекловидное тело и отслоению сетчатки, следствием чего является внезапная и необратимая потеря зрения, в настоящее время разрабатываются различные подходы для снижения уровня VEGF и активности зависимых от него сигнальных каскадов. Для этого используется иммунотерапия, снижающая уровень VEGF, но, вопреки ожиданиям, она оказывает лишь кратковременный эффект и у сравнительно небольшого числа диабетических больных, что указывает на участие в ретинальном ангиогенезе при СД других механизмов, в первую очередь UPR-сигнальных путей (Holz et al., 2014). Спектр UPR-путей, вовлеченных в контроль ретинального ангиогенеза, до сих пор не определен. По данным одних авторов, в контроле ангиогенеза в сетчатке в условиях СД и гипергликемии участвуют все три UPR-пути (Ghosh et al., 2010), по данным других — только IRE1/XBP1- и ATF6-зависимые пути (Liu et al., 2013). Показано также, что в условиях мягкого стресса ЭР, индуцируемого низкими дозами туникицина и тапсигаргина, повышается экспрессия шаперона GRP78 в культуре клеток эндотелия микросудов сетчатки. Повышение числа GRP78 вызвано возрастшей потребностью эндотелиальных клеток в этих шаперонах, необходимых для восстановления структуры дефектных белков, генерируемых в условиях стресса ЭР. Это повышение ассоциировано с усилением пролиферации и миграции эндотелиальных клеток, а также с активацией процесса неоваскуляризации (Nakamura et al., 2013). В этой связи следует отметить, что тяжесть и продолжительность стресса ЭР, а также модель ретинопатии или используемая культура клеток сетчатки имеют решающее значение для функционирования UPR-сигнальных путей, поскольку последние в этих условиях могут сильно варьировать.

В условиях СД наблюдаются патологические изменения в пигментном эпителии сетчатки, и хотя первые такие данные были получены еще 35 лет назад, до сих пор молекулярные механизмы развития этой патологии, в частности роль стресса ЭР и UPR-путей, изучены недостаточно (Kirber et al., 1980; Vinore et al., 1989; Xu, Le, 2011). Сравнительно недавно было показано, что в клетках пигментного эпителия диабетических больных с ДР повышен уровень фосфорилирования α -субъединицы фактора eIF2, что указывает на активацию PERK-пути в этих клетках (Miranda et al., 2012), а также повышена экспрессия шаперона GRP78, регулятора всех трех UPR-сигнальных путей, что является компенсаторной реакцией на рост числа неправильно свернутых белков в ЭР (Du et al., 2013).

В условиях ДР происходит активация процессов нейрональной дегенерации, включая гибель ретинальных ганглиозных клеток, усиливаются апоптотические процессы в клетках внутреннего ядерного слоя, отмечаются потеря нейрональными клетками синапсов и дендритов, изменения синаптической пластичности и гиперактивация микроглии, Мюллеровых клеток и астроцитов. Ключевую роль в нейродегенерации играет стресс ЭР, что показано как в случае недиабетической патологии сетчатки (Shimazawa et al., 2007; Hata et al., 2008; Doh et al., 2010; Liu et al., 2010; Jing et al., 2012), так и при экспериментальной ДР и при инкубации клеток сетчатки в среде с высоким содержанием глюкозы (Oshitari et al., 2008, 2011; Devi et al., 2012; Wu et al., 2012; Zhong et al., 2012). Показано, что в сетчатке диабетических крыс число клеток, содержащих сенсорную киназу PERK и транскрипционный фактор CHOP, основные маркеры PERK-зависимого UPR-пути, было существенно выше, чем в сетчатке здоровых крыс. Инкубация ретинальных клеток из сетчатки здоровых крыс в среде с высоким содержанием глюкозы также приводила к повышению числа PERK- и CHOP-позитивных клеток. Обработка клеток с помощью нейротрофина-4, обладающего выраженным нейропротекторным действием, приводила к снижению экспрессии PERK и CHOP и к уменьшению числа клеток с высоким содержанием этих маркеров стресса ЭР (Oshitari et al., 2008, 2011). Обнаружено также, что окисленные и гликированные формы липопротеидов низкой плотности, которые в большом количестве образуются при СД, вызывают апоптоз Мюllerовых клеток сетчатки, усиливая экспрессию и функциональную активность широкого спектра белков, включенных в различные UPR-пути, в том числе GRP78, ATF6, eIF2 α и CHOP (Wu et al., 2012). Инкубация Мюllerовых клеток в растворе, содержащем глюкозу в высоких концентрациях, приводит к усилению стресса ЭР, в котором задействованы PERK/eIF2 α /ATF4- и IRE1/XBP1-сигнальные пути, а также к аутофагии и апоптозу (Devi et al., 2012).

Потенциальные мишени для коррекции стресса ЭР при диабетической ретинопатии

Шапероноподобный белок p58IPK. Значительный интерес представляет шапероноподобный белок p58IPK с активностью ингибитора PERK, экспрессия которого, как отмечалось выше, регулируется через ATF6-зависимый UPR-путь. Этот белок экспрессируется преимущественно в ганглиозных клетках сетчатки, а также в ядерном слое фоторецепторных клеток (Boriuskin et al., 2014, 2015). Мыши, нокаутные по гену, кодирующему p58IPK, имеют повышенный уровень экспрессии транскрипционного фактора CHOP и полностью теряют ганглиозные клетки сетчатки в возрасте 8–10 мес. Интравитреальная инъекция здоровым мышам N-метил-D-аспартата (NMDA), селективного агониста глутаматных NMDA-рецепторов, приводила к стрессу ЭР в сетчатке и запускала защитный механизм, который состоял в повышении экспрессии мРНК для гена p58IPK. При этом наиболее выраженный стресс ЭР был отмечен в ганглиозных клетках сетчатки, которые вследствие этого подвергались апоптозу. Повышенная экспрессия гена p58IPK в культуре R28 нейрональных клеток сетчатки приводила к существенному ослаблению фосфорилирования eIF2 α , сниже-

нию экспрессии проапоптотических факторов CHOP и Bax, снижению активности каспазы-3 и поли(АДФ-рибоза)-полимеразы, компонентов апоптотических путей, а также усиливала экспрессию антиапоптотического белка Bcl-2. Вследствие этого в условиях стресса ЭР, а также окислительного стресса, который вызывали перекисью водорода, повышенная экспрессия гена *p58IPK* защищала ретинальные клетки от апоптоза и повышала их выживаемость (Boriushkin et al., 2015). Следует отметить, что белок *p58IPK* также подавляет экспрессию провоспалительных факторов, индуцируемую стрессом ЭР (Boriushkin et al., 2014).

Инtravitреальная инъекция мышам с экспериментальным СД 1-го типа очищенного рекомбинантного аденоассоциированного вирусного вектора, несущего ген для *p58IPK* (purified recombinant adeno-associated virus vector (rAAV2)-P58IPK), а также трансфекция гена *p58IPK* в эндотелиальные клетки капилляров сетчатки существенно снижали проницаемость сосудов сетчатки в условиях развития ДР. В сетчатке мышей, которые подверглись трансфекции гена *p58IPK*, были в значительной степени снижены уровень мРНК и количество белка для CHOP, TNF- α и VEGF. Сходные результаты были получены и в условиях *in vitro*. Повышенная экспрессия гена *p58IPK* в ретинальных клетках, инкубированных в среде с высоким содержанием глюкозы, предотвращала повышение в них экспрессии генов для CHOP, TNF- α и VEGF, в то время как выключение гена *p58IPK* с помощью микроРНК, напротив, усугубляло ситуацию, способствуя гиперактивации провоспалительных и проапоптотических каскадов (Yang et al., 2011).

Низкомолекулярные шапероны. Для подавления стресса ЭР могут быть использованы некоторые низкомолекулярные шапероны, которые часто представляют собой весьма простые химические соединения. Наибольший интерес представляют универсальные шапероны — 4-фенилмасляная кислота (Li et al., 2009a) и тауродезоксихолевая кислота, а также фенофибриновая кислота (2-[4'-(пара-хлорбензоил)фенокси]-2-метилпропионовая кислота) (Zhang et al., 2012), являющаяся лигандром для рецептора- α , активируемого пероксисомными пролифераторами (peroxisome proliferator-activated receptor- α , PPAR α) (Miranda et al., 2012; Treacy, Hurst, 2012; Chen et al., 2013; Ciudin et al., 2013; Morgan et al., 2013; Noonan et al., 2013).

Несмотря на то что молекулярные механизмы действия фенофибриновой кислоты до конца не выяснены, имеются исследования, указывающие на эффективность этого препарата при лечении пациентов с СД 2-го типа с клинически выраженной ДР (Treacy, Hurst, 2012; Ciudin et al., 2013; Morgan et al., 2013). В условиях *in vitro* показано, что обработка фенофибриновой кислотой культуры клеток ARPE-19 пигментного эпителия сетчатки человека, которые подвергали воздействию гипергликемии и гипоксии, в значительной степени предотвращала развитие стресса ЭР. При этом подавлялась стимуляция активности стрессактивируемых протеинкиназ — JNK и p38-митогенактивируемых протеинкиназ, снижалась фосфорилирование маркеров стресса ЭР — PERK и eIF2 α , а также экспрессия гена для проапоптотического фактора CHOP. Наряду с этим фенофибриновая кислота усилила сигнальные каскады, реализуемые через receptor инсулиноподобного фактора роста-1, подавляя активность каспазы-3 и других факторов апоптоза, что приводило к повышению выживаемости клеток ARPE-19, а также по-

вышала уровень белка LC3-II, одного из ключевых факторов аутофагии (Miranda et al., 2012).

Определенный интерес представляют каротиноиды и флавоноиды, в частности кроцетин, который получают из рыхьцев цветков шафрана (*Crocus sativus L.*) и плодов гардении (*Gardenia jasminoides* Ellis). Показано, что как *in vitro*, так и *in vivo* кроцетин подавляет активность проапоптотических каспаз-3 и -9 в культуре ганглиозных клеток сетчатки в условиях индуцированного туннеллингом стресса ЭР, а также в сетчатке мышей, подвергнутой разрушению световыми импульсами (Yamauchi et al., 2011). Однако данные о применении растительных пигментов для лечения ДР в настоящее время отсутствуют.

Регуляторы гормональных сигнальных систем. Рецепторы к глюкагоноподобному пептиду-1 (ГПП-1) обнаружены в ретинальных клетках в экспериментах как *in vivo*, так и *in vitro*, что свидетельствует о важной роли ГПП-1 и его аналогов в регуляции жизненно важных процессов в сетчатке (Zhang et al., 2009, 2011; Hao et al., 2012). Экзендин-4, устойчивый к протеолизу аналог ГПП-1 с пролонгированным действием, широко используется для лечения СД 2-го типа, оказывая положительное влияние на ЦНС и периферический метаболизм (Nielsen et al., 2004). В последние годы появились многочисленные данные о том, что в условиях экспериментальных моделей СД 2-го типа экзендин-4 и другие аналоги ГПП-1 оказывают значительный терапевтический эффект на сетчатку и предупреждают развитие ДР, и этот их эффект основан на выраженному нейропротекторном действии в отношении различных клеток сетчатки (Zhang et al., 2009, 2011; Fan et al., 2014a, 2014b).

Показано, что экзендин-4 оказывает положительное влияние на функции сетчатки крыс Goto-Kakizaki с СД 2-го типа, а также на культуры ретинальных ганглиозных клеток, инкубированных в среде с повышенным содержанием глюкозы, защищая их от окислительного стресса и стресса ЭР (Fan et al., 2014b). Инtravitреальные инъекции экзендинина-4 диабетическим крысам в дозе 0.1 мкг на один глаз приводили к усилению экспрессии в сетчатке антиапоптотического белка Bcl-2 и снижению экспрессии проапоптотических белков Bax и Bcl-xL, что приводило к нормализации соотношения Bcl-2/Bax и Bcl-xL/Bax. Эти инъекции также вызывали снижение активности важнейшего маркера апоптоза — каспазы-3 (Fan et al., 2014b). Сходный эффект наблюдали и в клеточных культурах, обработанных экзендином-4. Установлено также, что обработка экзендином-4 подавляет фосфорилирование Akt-киназы по остатку Ser⁴⁷³, которое индуцирует запуск Akt-зависимых апоптотических каскадов, ведущих к нейродегенерации и гибели ретинальных клеток (Li et al., 2009b). Обработка экзендином-4 диабетических крыс подавляла в их сетчатке экспрессию генов, кодирующих плацентарный фактор роста (PLGF) и VEGF, а также снижала уровень адгезионных молекул (ICAM-1), что защищало гематоретинальный барьер и способствовало восстановлению гомеостаза в сетчатке (Fan et al., 2014a). Совокупность полученных данных указывает на большие перспективы в практическом применении экзендинина-4 и других аналогов ГПП-1 при лечении ДР. Следует отметить, что экзендин-4 подавляет стресс ЭР не только в сетчатке, что указывает на универсальность его действия как ингибитора стресса ЭР и блокатора антиапоптотических и противовоспалительных процессов (Lee et al., 2015).

В условиях ДР в сетчатке в значительной степени нарушаются функции дофаминергической системы, что

сходно с тем, как это происходит при болезни Паркинсона (Aung et al., 2014; Tian et al., 2015). Обнаружено, что в сетчатке крыс и мышей со стрептозотоциновой моделью СД 1-го типа уже через 4—5 нед достоверно снижается уровень дофамина, и что хорошо согласуется с первыми признаками нарушения зрительной функции. Обработка животных с помощью L-DOPA, предшественника дофамина, и селективных агонистов D1- и D4-дофаминовых рецепторов в значительной степени улучшала у них функционирование сетчатки и зрительную функцию (Aung et al., 2014). Следует, однако, отметить, что бромокриптина, агонист D2-дофаминовых рецепторов, который оказывает позитивный эффект на инсулиновую чувствительность, периферический метаболизм и функции ЦНС в условиях СД 2-го типа (Деркач и др., 2014; Шпаков и др., 2014), применять для коррекции ДР весьма рискованно. Напротив, предполагается, что бромокриптиновая терапия может повысить риск развития ДР, поскольку этот D2-агонист снижает уровень пролактина, который обладает свойствами предотвращать нарушения функций сетчатки в условиях СД (Arnold et al., 2010). В то же время недавно были получены данные о том, что бромокриптин способен подавлять индуцируемый тапсигаргином стресс ЭР и предотвращать таким образом клеточную гибель (Kim et al., 2012). В основе действия бромокриптина лежит его регуляторное влияние на экспрессию GRP78 и ингибирование фосфорилирования p38-митогенактивируемых протеинкиназ, которые являются негативными регуляторами сигнальных путей, регулируемых инсулином и инсулиноподобным фактором роста-1.

Большой интерес представляет недавно разработанный циклический пептид C*HSDGIC* (CHC), являющийся фрагментом 1—5 молекулы гипофизарного активирующего аденилатциклазу полипептида PACAP-38 (Ding et al., 2012; Cheng et al., 2014; Marzagalli et al., 2015). Следует отметить, что на протяжении нескольких лет проводились исследования влияния полноразмерной молекулы PACAP-38 на дегенеративные процессы в сетчатке и была показана эффективность этого препарата, но синтез короткого и высокоустойчивого аналога, безусловно, придал этим исследованиям практическое значение.

Таким образом, предложено несколько подходов для коррекции нарушенных при СД функций сетчатки. Однако в большинстве своем они апробируются только на экспериментальных моделях ДР и еще не нашли своего применения в клинике. Исключение составляет фенофибриновая кислота со свойствами низкомолекулярного шаперона, но механизмы ее действия на функции сетчатки при СД остаются мало изученными. Вследствие этого одной из наиболее острых и актуальных проблем современной биологии и медицины остается разработка и практическое применение новых стратегий для коррекции стресса ЭР в сетчатке при СД, в том числе основанных на восстановлении функциональной активности гормональных и нейромедиаторных систем, которые непосредственно вовлечены в этиологию и патогенез ДР.

Список литературы

- Деркач К. В., Бондарева В. М., Мойсеюк И. В., Шпаков А. О. 2014. Влияние 2-месячного лечения бромокриптином на активность аденилатциклазной сигнальной системы в миокарде и семенниках крыс с сахарным диабетом 2-го типа. Цитология. 56 (12) : 907—918. (Derkach K. V., Bondareva V. M., Moiseyuk I. V., Shpakov A. O. 2015. The effect of 2-month bromocriptine treatment on the activity of the adenylate cyclase signaling system in the myocardium and testes of rats with type 2 diabetes. Cell Tissue Biol. 9 (5) : 395—405.)
- Шпаков А. О., Деркач К. В., Чистякова О. В., Бондарева В. М. 2014. Влияние лечения бромокриптином на активность аденилатциклазной системы в мозге крыс с сахарным диабетом 2-го типа, вызванным высокожировой диетой. Докл. РАН. 459 (2) : 243—247. (Shpakov A. O., Derkach K. V., Chistyakova O. V., Bondareva V. M. 2014. The influence of bromocryptine treatment on activity of the adenylyl cyclase system in the brain of rats with type 2 diabetes mellitus induced by high-fat diet. Dokl. Biochem. Biophys. 459 (1) : 186—189.)
- Ali M. M., Bagratuni T., Davenport E. L., Nowak P. R., Silva-Santisteban M. C., Hardcastle A., McAndrews C., Rowlands M. G., Morgan G. J., Aherne W., Collins I., Davies F. E., Pearl L. H. 2011. Structure of the Ire1 autoprophosphorylation complex and implications for the unfolded protein response. EMBO J. 30 : 894—905.
- Arnold E., Rivera J. C., Thebault S., Moreno-Paramo D., Quiroz-Mercado H., Quintanar-Stephano A., Binart N., Martinez de la Escalera G., Clapp C. 2010. High levels of serum prolactin protect against diabetic retinopathy by increasing ocular vasoinhibins. Diabetes. 59 : 3192—3197.
- Aung M.H., Park H.N., Han M.K., Obertone T.S., Abey J., Aseem F., Thule P.M., Iuvone P.M., Pardue M.T. 2014. Dopamine deficiency contributes to early visual dysfunction in a rodent model of type 1 diabetes. J. Neurosci. 34 : 726—736.
- Boriushkin E., Wang J. J., Li J., Jing G., Seigel G. M., Zhang S. X. 2015. Identification of p58IPK as a novel neuroprotective factor for retinal neurons. Invest. Ophthalmol. Vis. Sci. 56 : 1374—1386.
- Boriushkin E., Wang J. J., Zhang S. X. 2014. Role of p58IPK in endoplasmic reticulum stress-associated apoptosis and inflammation. J. Ophthalmic. Vis. Res. 9 : 134—143.
- Calson M., Zeng H., Urano F., Till J. H., Hubbard S. R., Harding H. P., Clark S. G., Ron D. 2002. IRE1 couples endoplasmic reticulum load to secretory capacity by processing the XBP-1 mRNA. Nature. 415 : 92—96.
- Chen Y., Hu Y., Lin M., Jenkins A. J., Keech A. C., Mott R., Lyons T. J., Ma J. X. 2013. Therapeutic effects of PPAR γ agonists on diabetic retinopathy in type 1 diabetes models. Diabetes. 62 : 261—272.
- Chen Y., Wang J. J., Li J., Hosoya K. I., Ratan R., Townes T., Zhang S. X. 2012. Activating transcription factor 4 mediates hyperglycaemia-induced endothelial inflammation and retinal vascular leakage through activation of STAT3 in a mouse model of type 1 diabetes. Diabetologia. 55 : 2533—2545.
- Cheng H., Ding Y., Yu R., Chen J., Wu C. 2014. Neuroprotection of a novel cyclopeptide C*HSDGIC* from the cyclization of PACAP (1—5) in cellular and rodent models of retinal ganglion cell apoptosis. PLoS ONE. 9 : e108090. doi: 10.1371/journal.pone.0108090.
- Ciudin A., Hernandez C., Simó R. 2013. Molecular implications of the PPARs in the diabetic eye. PPAR Res. 2013 : 686525. doi: 10.1155/2013/686525.
- Congdon N., O'Colmain B., Klaver C. C., Klein R., Munoz B., Friedman D. S., Kempen J., Taylor H. R., Mitchell P. 2004. Causes and prevalence of visual impairment among adults in the United States. Arch. Ophthalmol. 122 : 477—485.
- Coucha M., Elshaer S. L., Eldahshan W. S., Mysona B. A., El-Remessy A. B. 2015. Molecular mechanisms of diabetic retinopathy: potential therapeutic targets. Middle East Afr. J. Ophthalmol. 22 : 135—144.
- Devi T. S., Lee I., Hutmenn M., Kumar A., Nantwi K. D., Singh L. P. 2012. TXNIP links innate host defense mechanisms to oxidative stress and inflammation in retinal muller glia under chronic hyperglycemia: implications for diabetic retinopathy. Exp. Diabetes Res. 2012 : 438238. doi: 10.1155/2012/438238.
- Ding Y., Cheng H., Yu R., Tang C., Liu X., Chen J. 2012. Effects of cyclopeptide C*HSDGIC* from the cyclization of PACAP (1—5) on the proliferation and UVB-induced apoptosis of the retinal ganglion cell line RGC-5. Peptides. 36 : 280—285.

- Doh S. H., Kim J. H., Lee K. M., Park H. Y., Park C. K. 2010. Retinal ganglion cell death induced by endoplasmic reticulum stress in a chronic glaucoma model. *Brain Res.* 1308 : 158—166.
- Du M., Wu M., Fu D., Yang S., Chen J., Wilson K., Lyons T. J. 2013. Effects of modified LDL and HDL on retinal pigment epithelial cells: a role in diabetic retinopathy? *Diabetologia.* 56 : 2318—2328.
- Fan Y., Liu K., Wang Q., Ruan Y., Ye W., Zhang Y. 2014a. Exendin-4 alleviates retinal vascular leakage by protecting the blood-retinal barrier and reducing retinal vascular permeability in diabetic Goto-Kakizaki rats. *Exp. Eye Res.* 127 : 104—116.
- Fan Y., Liu K., Wang Q., Ruan Y., Zhang Y., Ye W. 2014b. Exendin-4 protects retinal cells from early diabetes in Goto-Kakizaki rats by increasing the Bcl-2/Bax and Bcl-xL/Bax ratios and reducing reactive gliosis. *Mol. Vis.* 20 : 1557—1568.
- Ferris F. L. 3rd. 1994. Results of 20 years of research on the treatment of diabetic retinopathy. *Prev. Med.* 23 : 740—742.
- Fu D., Wu M., Zhang J., Du M., Yang S., Hammad S. M., Wilson K., Chen J., Lyons T. J. 2012. Mechanisms of modified LDL-induced pericyte loss and retinal injury in diabetic retinopathy. *Diabetologia.* 55 : 3128—3140.
- Ghosh R., Lipson K. L., Sargent K. E., Mercurio A. M., Hunt J. S., Ron D., Urano F. 2010. Transcriptional regulation of VEGF-A by the unfolded protein response pathway. *PLoS ONE.* 5 : e9575. doi: 10.1371/journal.pone.0009575.
- Gorbatyuk M., Gorbatyuk O. 2013. Review: retinal degeneration: focus on the unfolded protein response. *Mol. Vis.* 19 : 1985—1998.
- Hao M., Kuang H. Y., Fu Z., Gao X. Y., Liu Y., Deng W. 2012. Exenatide prevents high-glucose-induced damage of retinal ganglion cells through a mitochondrial mechanism. *Neurochem. Int.* 61 : 1—6.
- Harding H. P., Zhang Y., Ron D. 1999. Protein translation and folding are coupled by an endoplasmic-reticulum-resident kinase. *Nature.* 397 : 271—274.
- Harding H. P., Zhang Y., Zeng H., Novoa I., Lu P. D., Calfon M., Sadri N., Yun C., Popko B., Paules R., Stojdl D. F., Bell J. C., Hettmann T., Leiden J. M., Ron D. 2003. An integrated stress response regulates amino acid metabolism and resistance to oxidative stress. *Mol. Cell.* 11 : 619—633.
- Hata N., Oshitari T., Yokoyama A., Mitamura Y., Yamamoto S. 2008. Increased expression of IRE1α and stress-related signal transduction proteins in ischemia-reperfusion injured retina. *Clin. Ophthalmol.* 2 : 743—752.
- Haze K., Yoshida H., Yanagi H., Yura T., Mori K. 1999. Mammalian transcription factor ATF6 is synthesized as a transmembrane protein and activated by proteolysis in response to endoplasmic reticulum stress. *Mol. Biol. Cell.* 10 : 3787—3799.
- Holz F. G., Schmitz-Valckenberg S., Fleckenstein M. 2014. Recent developments in the treatment of age-related macular degeneration. *J. Clin. Invest.* 124 : 1430—1438.
- Hotamisligil G. S. 2010. Endoplasmic reticulum stress and the inflammatory basis of metabolic disease. *Cell.* 140 : 900—917.
- Jing G., Wang J. J., Zhang S. X. 2012. ER stress and apoptosis: a new mechanism for retinal cell death. *Exp. Diabetes Res.* 2012 : 589589. doi: 10.1155/2012/589589.
- Kanemoto S., Kondo S., Ogata M., Murakami T., Urano F., Imaizumi K. 2005. XBP1 activates the transcription of its target genes via an ACGT core sequence under ER stress. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 331 : 1146—1153.
- Kempen J. H., O'Colmain B. J., Leske M. C., Haffner S. M., Klein R., Moss S. E., Taylor H. R., Hamman R. F., West S. K., Wang J. J., Congdon N. G., Friedman D. S. 2004. The prevalence of diabetic retinopathy among adults in the United States. *Arch. Ophthalmol.* 122 : 552—563.
- Kim I. K., Park S. J., Park J. H., Lee S. H., Hong S. E., Reed J. C. 2012. Cyclosporine A and bromocriptine attenuate cell death mediated by intracellular calcium mobilization. *BMB Rep.* 45 : 482—487.
- Kirber W. M., Nichols C. W., Grimes P. A., Winegrad A. I., Latiess A. M. 1980. A permeability defect of the retinal epithelium. Occurrence in early streptozocin diabetes. *Arch. Ophthalmol.* 98 : 725—728.
- Lee A. H., Iwakoshi N. N., Glimcher L. H. 2003. XBP-1 regulates a subset of endoplasmic reticulum resident chaperone genes in the unfolded protein response. *Mol. Cell. Biol.* 23 : 7448—7459.
- Lee J., Hong S. W., Park S. E., Rhee E. J., Park C. Y., Oh K. W., Park S. W., Lee W. Y. 2015. Exendin-4 inhibits the expression of SEPP1 and fetuin-A via improvement of palmitic acid-induced endoplasmic reticulum stress by AMPK. *Endocrinol. Metab. (Seoul).* 30 : 177—184.
- Li B., Wang H. S., Li G. G., Zhao M. J., Zhao M. H. 2011a. The role of endoplasmic reticulum stress in the early stage of diabetic retinopathy. *Acta Diabetol.* 48 : 103—111.
- Li J., Wang J. J., Yu Q., Wang M., Zhang S. X. 2009a. Endoplasmic reticulum stress is implicated in retinal inflammation and diabetic retinopathy. *FEBS Lett.* 583 : 1521—1527.
- Li J., Wang J. J., Zhang S. X. 2011b. Preconditioning with endoplasmic reticulum stress mitigates retinal endothelial inflammation via activation of X-box binding protein 1. *J. Biol. Chem.* 286 : 4912—4921.
- Li Y., Perry T., Kindy M. S., Harvey B. K., Tweedie D., Holloway H. W., Powers K., Shen H., Egan J. M., Sambamurti K., Brossi A., Lahiri D. K., Mattson M. P., Hoffer B. J., Wang Y., Greig N. H. 2009b. GLP-1 receptor stimulation preserves primary cortical and dopaminergic neurons in cellular and rodent model of stroke and Parkinsonism. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 106 : 1285—1290.
- Lind K. R., Ball K. K., Cruz N. F., Dienel G. A. 2013. The unfolded protein response to endoplasmic reticulum stress in cultured astrocytes and rat brain during experimental diabetes. *Neurochem. Int.* 62 : 784—795.
- Liu H., Qian J., Wang F., Sun X., Xu X., Xu W., Zhang X., Zhang X. 2010. Expression of two endoplasmic reticulum stress markers, GRP78 and GADD153, in rat retinal detachment model and its implication. *Eye (London).* 24 : 137—144.
- Liu L., Qi X., Chen Z., Shaw L., Cai J., Smith L. H., Grant M. B., Boulton M. E. 2013. Targeting the IRE1α/XBP1 and ATF6 arms of the unfolded protein response enhances VEGF blockade to prevent retinal and choroidal neovascularization. *Amer. J. Pathol.* 182 : 1412—1424.
- Ma J. H., Wang J. J., Zhang S. X. 2014. The unfolded protein response and diabetic retinopathy. *J. Diabetes Res.* 2014 : 160140. doi: 10.1155/2014/160140.
- Marzagalli R., Scuderi S., Drago F., Waschek J. A., Castorina A. 2015. Emerging role of PACAP as a new potential therapeutic target in major diabetes complications. *Int. J. Endocrinol.* 2015 : 160928. doi: 10.1155/2015/160928.
- Miranda S., González-Rodríguez Á., García-Ramírez M., Revuelta-Cervantes J., Hernández C., Simó R., Valverde Á. M. 2012. Beneficial effects of fenofibrate in retinal pigment epithelium by the modulation of stress and survival signaling under diabetic conditions. *J. Cell. Physiol.* 227 : 2352—2362.
- Morgan C. L., Owens D. R., Aubonnet P., Carr E. S., Jenkins-Jones S., Poole C. D., Currie C. J. 2013. Primary prevention of diabetic retinopathy with fibrates: a retrospective, matched cohort study. *BMJ Open.* 3 : e004025. doi: 10.1136/bmjjopen-2013-004025.
- Nakamura S., Takizawa H., Shimazawa M., Hashimoto Y., Sugitani S., Tsuruma K., Hara H. 2013. Mild endoplasmic reticulum stress promotes retinal neovascularization via induction of BiP/GRP78. *PLoS ONE.* 8 : e60517. doi: 10.1371/journal.pone.0060517.
- Nathan D. M., Zinman B., Cleary P. A., Backlund J. Y., Genuth S., Miller R., Orchard T. J. 2009. Modern-day clinical course of type 1 diabetes mellitus after 30 years' duration: the diabetes control and complications trial/epidemiology of diabetes interventions and complications and Pittsburgh epidemiology of diabetes complications experience (1983—2005). *Arch. Intern. Med.* 169 : 1307—1316.
- Nielsen L. L., Young A. A., Parkes D. G. 2004. Pharmacology of exenatide (synthetic exendin-4): a potential therapeutic for improved glycemic control of type 2 diabetes. *Regul. Pept.* 117 : 77—88.

- Noonan J. E., Jenkins A. J., Ma J. X., Keech A. C., Wang J. J., Lamoureux E. L. 2013. An update on the molecular actions of fenofibrate and its clinical effects on diabetic retinopathy and other microvascular end points in patients with diabetes. *Diabetes*. 62 : 3968—3975.
- Ola M. S., Nawaz M. I., Khan H. A., Alhomida A. S. 2013. Neurodegeneration and neuroprotection in diabetic retinopathy. *Int. J. Mol. Sci.* 14 : 2559—2572.
- Ola M. S., Nawaz M. I., Siddiquei M. M., Al-Amro S., Abu El-Asrar A. M. 2012. Recent advances in understanding the biochemical and molecular mechanism of diabetic retinopathy. *J. Diabetes Complications*. 26 : 56—64.
- Oshitari T., Hata N., Yamamoto S. 2008. Endoplasmic reticulum stress and diabetic retinopathy. *Vasc. Health Risk Manag.* 4 : 115—122.
- Oshitari T., Yoshida-Hata N., Yamamoto S. 2011. Effect of neurotrophin-4 on endoplasmic reticulum stress-related neuronal apoptosis in diabetic and high glucose exposed rat retinas. *Neurosci. Lett.* 501 : 102—106.
- Ozcan U., Cao Q., Yilmaz E., Lee A. H., Iwakoshi N. N., Ozdelen E., Tuncman G., Gorgun C., Glimcher L. H., Hotamisligil G. S. 2004. Endoplasmic reticulum stress links obesity, insulin action, and type 2 diabetes. *Science*. 306 : 457—461.
- Ozcan U., Yilmaz E., Ozcan L., Furuhashi M., Vaillancourt E., Smith R. O., Gorgun C. Z., Hotamisligil G. S. 2006. Chemical chaperones reduce ER stress and restore glucose homeostasis in a mouse model of type 2 diabetes. *Science*. 313 : 1137—1140.
- Pierce E. A., Avery R. L., Foley E. D., Aiello L. P., Smith L. E. 1995. Vascular endothelial growth factor/vascular permeability factor expression in a mouse model of retinal neovascularization. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 92 : 905—909.
- Ron D., Walter P. 2007. Signal integration in the endoplasmic reticulum unfolded protein response. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* 8 : 519—529.
- Rutkowski D. T., Kang S. W., Goodman A. G., Garrison J. L., Taunton J., Katze M. G., Kaufman R. J., Hegde R. S. 2007. The role of p58IPK in protecting the stressed endoplasmic reticulum. *Mol. Biol. Cell*. 18 : 3681—3691.
- Schindler A. J., Scheckman R. 2009. *In vitro* reconstitution of ER-stress induced ATF6 transport in COPII vesicles. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 106 : 17 775—17 780.
- Shimazawa M., Inokuchi Y., Ito Y., Murata H., Aihara M., Miura M., Araie M., Hara H. 2007. Involvement of ER stress in retinal cell death. *Mol. Vis.* 13 : 578—587.
- Sims-Robinson C., Zhao S., Hur J., Feldman E. L. 2012. Central nervous system endoplasmic reticulum stress in a murine model of Type 2 diabetes. *Diabetologia*. 55 : 2276—2284.
- Steiger J. L., Bandyopadhyay S., Farb D. H., Russek S. J. 2004. cAMP response element-binding protein, activating transcription factor-4, and upstream stimulatory factor differentially control hippocampal GABA_AR1a and GABA_AR1b subunit gene expression through alternative promoters. *J. Neurosci.* 24 : 6115—6126.
- Tang L., Zhang Y., Jiang Y., Willard L., Ortiz E., Wark L., Medeiros D., Lin D. 2011. Dietary wolfberry ameliorates retinal structure abnormalities in db/db mice at the early stage of diabetes. *Exp. Biol. Med. (Maywood)*. 236 : 1051—1063.
- Tian T., Li Z., Lu H. 2015. Common pathophysiology affecting diabetic retinopathy and Parkinson's disease. *Med. Hypotheses*. 85 : 397—398.
- Tirasophon W., Welihinda A. A., Kaufman R. J. 1998. A stress response pathway from the endoplasmic reticulum to the nucleus requires a novel bifunctional protein kinase/endoribonuclease (Ire1p) in mammalian cells. *Genes Develop.* 12 : 1812—1824.
- Treacy M. P., Hurst T. P. 2012. The case for intraocular delivery of PPAR agonists in the treatment of diabetic retinopathy. *BMC Ophthalmol.* 12 : 46. doi: 10.1186/1471-2415-12-46.
- Tsaytler P., Harding H. P., Ron D., Bertolotti A. 2011. Selective inhibition of a regulatory subunit of protein phosphatase 1 restores proteostasis. *Science*. 332 : 91—94.
- Urano F., Wang X., Bertolotti A., Zhang Y., Chung P., Harding H. P., Ron D. 2000. Coupling of stress in the ER to activation of JNK protein kinases by transmembrane protein kinase IRE1. *Science*. 287 : 664—666.
- Vekich J. A., Belmont P. J., Thuerauf D. J., Glembotski C. C. 2012. Protein disulfide isomerase-associated 6 is an ATF6-inducible ER stress response protein that protects cardiac myocytes from ischemia/reperfusion-mediated cell death. *J. Mol. Cell. Cardiol.* 53 : 259—267.
- Vinores S. A., Gadegbeku C., Campochiaro P. A., Green W. R. 1989. Immunohistochemical localization of blood-retinal barrier breakdown in human diabetics. *Amer. J. Pathol.* 134 : 231—235.
- Walter P., Ron D. 2011. The unfolded protein response: from stress pathway to homeostatic regulation. *Science*. 334 : 1081—1086.
- Wang X. Z., Harding H. P., Zhang Y., Jolicoeur E. M., Kuroda M., Ron D. 1998. Cloning of mammalian Ire1 reveals diversity in the ER stress responses. *EMBO J.* 17 : 5708—5717.
- Wang Y., Shen J., Arenzana N., Tirasophon W., Kaufman R. J., Prywes R. 2000. Activation of ATF6 and an ATF6 DNA binding site by the endoplasmic reticulum stress response. *J. Biol. Chem.* 275 : 27 013—27 020.
- Wu J., Rutkowski D. T., Dubois M., Swathirajan J., Saunders T., Wang J., Song B., Yau G. D., Kaufman R. J. 2007. ATF6α optimizes long-term endoplasmic reticulum function to protect cells from chronic stress. *Develop. Cell*. 13 : 351—364.
- Wu M., Yang S., Elliott M. H., Fu D., Wilson K., Zhang J., Du M., Chen J., Lyons T. 2012. Oxidative and endoplasmic reticulum stresses mediate apoptosis induced by modified LDL in human retinal Müller cells. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* 53 : 4595—4604.
- Xu H. Z., Le Y. Z. 2011. Significance of outer blood-retina barrier breakdown in diabetes and ischemia. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* 52 : 2160—2164.
- Yamamoto K., Sato T., Matsui T., Sato M., Okada T., Yoshida H., Harada A., Mori K. 2007. Transcriptional induction of mammalian ER quality control proteins is mediated by single or combined action of ATF6α and XBP1. *Develop. Cell*. 13 : 365—376.
- Yamauchi M., Tsuruma K., Imai S., Nakanishi T., Umigai N., Shimazawa M., Hara H. 2011. Crocetin prevents retinal degeneration induced by oxidative and endoplasmic reticulum stresses via inhibition of caspase activity. *Eur. J. Pharmacol.* 650 : 110—119.
- Yang H., Liu R., Cui Z., Chen Z. Q., Yan S., Pei H., Li B. 2011. Functional characterization of 58-kilodalton inhibitor of protein kinase in protecting against diabetic retinopathy via the endoplasmic reticulum stress pathway. *Mol. Vis.* 17 : 78—84.
- Ye J., Rawson R. B., Komuro R., Chen X., Dave U. P., Prywes R., Brown M. S., Goldstein J. L. 2000. ER stress induces cleavage of membrane-bound ATF6 by the same proteases that process SREBPs. *Mol. Cell*. 6 : 1355—1364.
- Yoshida H., Matsui T., Hosokawa N., Kaufman R. J., Nagata K., Mori K. 2003. A time-dependent phase shift in the mammalian unfolded protein response. *Develop. Cell*. 4 : 265—271.
- Yoshimura T., Sonoda K. H., Sugahara M., Mochizuki Y., Enaida H., Oshima Y., Ueno A., Hata Y., Yoshida H., Ishibashi T. 2009. Comprehensive analysis of inflammatory immune mediators in vitreoretinal diseases. *PLoS ONE*. 2009. 4 : e8158. doi: 10.1371/journal.pone.0008158.
- Zhang C., Kawauchi J., Adachi M. T., Hashimoto Y., Oshiro S., Aso T., Kitajima S. 2001. Activation of JNK and transcriptional repressor ATF3/LRF1 through the IRE1/TRAF2 pathway is implicated in human vascular endothelial cell death by homocysteine. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 289 : 718—724.
- Zhang C., Wang H., Nie J., Wang F. 2014. Protective factors in diabetic retinopathy: focus on blood-retinal barrier. *Discov. Med.* 18 : 105—112.
- Zhang T., Baehr W., Fu Y. 2012. Chemical chaperone TUDCA preserves cone photoreceptors in a mouse model of Leber congenital amaurosis. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* 53 : 3349—3356.
- Zhang Y., Wang Q., Zhang J., Lei X., Xu G. T., Ye W. 2009. Protection of exendin-4 analogue in early experimental diabetic retinopathy. *Graefes Arch. Clin. Exp. Ophthalmol.* 247 : 699—706.

Zhang Y., Zhang J., Wang Q., Lei X., Xu G. T., Ye W. 2011. Intravitreal injection of exendin-4 analogue protects retinal cells in early diabetic rats. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* 52 : 278—285.

Zhong Y., Li J., Chen Y., Wang J. J., Ratan R., Zhang S. X. 2012. Activation of endoplasmic reticulum stress by hyperglycemia is essential for Muller cell-derived inflammatory cytokine production in diabetes. *Diabetes*. 61 : 492—504.

Поступила 18 I 2016

ENDOPLASMIC RETICULUM STRESS IN DIABETIC RETINOPATHY AND THE APPROACHES TO ITS CORRECTION

A. O. Shpakov,¹ Yu. R. Ryzhov

I. M. Sechenov Institute of Evolutionary Physiology and Biochemistry, RAS, St. Petersburg, 194223;
¹ e-mail: alex_shpakov@list.r

Diabetic retinopathy (DR) is one of the most common complications of diabetes mellitus (DM). Among the molecular mechanisms leading to the development of DR, the endoplasmic reticulum (ER) stress that is identified in DM in retinal neurons and in pericytes of retinal capillaries plays an important role. Abnormalities in the folding and maturation of proteins in ER trigger the ER specific response, referred as the unfolded protein response (UPR), which induces protein refolding or degradation. Currently, there are three main UPR-pathways that include inositol-requiring enzyme-1 (IRE1), transcription factor-6 (ATF6) and sensory kinase PERK as the sensor components, all of which are involved in the pathological changes in the retina at DR, inducing the inflammation, apoptosis and vascular impairment therein. In the review, the functional changes in IRE1-, ATF6- and PERK-dependent UPR-pathways in diabetic retina, as well as factors that contribute to the development of ER stress in retinal cells including pro-inflammatory factors, vascular endothelial growth factor and intercellular adhesion molecules are considered. The approaches to ER stress correction in diabetic retina, which include the use of low-molecular chaperones, such as fenofibric acid, increased activity of chaperone-like p58IPK protein, and the restoration of activity of retinal hormonal signaling systems, whose functions are violated in DR, are discussed.

Key words: diabetic retinopathy, endoplasmic reticulum stress, unfolded protein response, chaperone, PERK kinase, hormonal signaling system.