

Received: 2011.11.02  
Accepted: 2012.02.08  
Published: 2012.03.14

## Pleiotropowe działanie proinsulinowego peptydu C

### Pleiotropic action of proinsulin C-peptid

Michał Usarek, Jadwiga Bryła

Zakład Regulacji Metabolizmu, Instytut Biochemii, Wydział Biologii, Uniwersytet Warszawski

#### Streszczenie

Proinsulinowy peptyd C, wydzielany w równomolowych ilościach z insuliną przez komórki  $\beta$  trzustki, od chwili odkrycia w 1967 r. był uważany za cząsteczkę pozbawioną funkcji biologicznych z wyjątkiem umożliwienia tworzenia wiązań disiarczkowych pomiędzy łańcuchami A i B w procesie syntezy aktywnej cząsteczki insuliny. Jednak badania ostatnich dwóch dekad wykazały istotną rolę peptydu C w regulacji wielu procesów w różnych typach komórek i organów. Jak dotąd nie wiadomo, czy peptyd C działa za pośrednictwem receptora sprzężonego z białkiem G, czy bezpośrednio – po wnikięciu do komórek. Dotychczas nie udało się zidentyfikować receptora wiążącego ten peptyd. Peptyd C zmniejsza zmiany patologiczne wywołane przez cukrzycę typu 1, takie jak hiperfiltracja kłębuszkowa, stan zapalny śródbłónka naczyń czy demielinizacja neuronów. U chorych na cukrzycę oraz modelowych zwierząt cukrzycowych, podawanie peptydu C w fizjologicznych stężeniach wpływa na poprawę funkcjonalnych i strukturalnych właściwości nerwów obwodowych, a także ochrania przed indukowaną przez hiperglikemię apoptozą i stymuluje proliferację komórek nerwowych. Ponadto peptyd C wpływa na syntezę glikogenu w mięśniach, a w doświadczeniach *in vitro* powoduje dezagregację oligomerów insuliny, zwiększając w ten sposób potencjalnie jej biodostępność w organizmie i potęgując efekty działania insuliny na metabolizm. W ostatnich latach pojawiło się wiele kontrowersyjnych doniesień dotyczących biologicznej roli peptydu C, a zwłaszcza jego działania na aktywność ATP-azy zależnej od jonów sodu i potasu. Podwyższone stężenie peptydu C u pacjentów z cukrzycą typu 2 przyczynia się jednak do rozwoju miażdżycy naczyń krwionośnych. Dlatego potrzebne są długotrwałe badania kliniczne dotyczące działania peptydu C w dawkach fizjologicznych, by jego stosowanie w terapii było bezpieczne.

#### Słowa kluczowe:

peptyd C • insulina • cukrzyca • metabolizm • białko G • internalizacja

#### Summary

Proinsulin C-peptide, released in equimolar amounts with insulin by pancreatic  $\beta$  cells, since its discovery in 1967 has been thought to be devoid of biological functions apart from correct insulin processing and formation of disulfide bonds between A and B chains. However, in the last two decades research has brought a substantial amount of data indicating a crucial role of C-peptide in regulating various processes in different types of cells and organs. C-peptide acts presumably via either G-protein-coupled receptor or directly inside the cell, after being internalized. However, a receptor binding this peptide has not been identified yet. This peptide ameliorates pathological changes induced by type 1 diabetes mellitus, including glomerular hyperfiltration, vessel endothelium inflammation and neuron demyelination. In diabetic patients and diabetic animal models, C-peptide substitution in physiological doses improves the functional and structural properties of peripheral neurons and protects against hyperglycemia-induced apoptosis, promoting neuronal development, regeneration and cell survival. Moreover, it affects glycogen synthesis in skeletal muscles. *In vitro* C-peptide promotes disaggregation of insulin oligomers, thus enhancing its bioavailability and effects on metabolism. There are controversies concerning the biological

action of C-peptide, particularly with respect to its effect on  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -ATPase activity. Surprisingly, the excess of circulating peptide associated with diabetes type 2 contributes to atherosclerosis development. In view of these observations, long-term, large-scale clinical investigations using C-peptide physiological doses need to be conducted in order to determine safety and health outcomes of long-term administration of C-peptide to diabetic patients.

**Key words:** C-peptide • insulin • diabetes • metabolism • G protein • internalization

**Full-text PDF:** <http://www.phmd.pl/fulltxt.php?ICID=986169>

**Word count:** 4491

**Tables:** 1

**Figures:** 3

**References:** 88

**Adres autora:** mgr Michał Usarek, Zakład Regulacji Metabolizmu, Wydział Biologii Uniwersytetu Warszawskiego, ul. I. Miecznikowa 1, 02-096 Warszawa; e-mail: musarek@biol.uw.edu.pl

**Wykaz skrótów:** **CDK** – kinaza zależna od cyklin; **COX** – cyklooksyzgenaza; **CPR** – immunoreaktywny peptyd C; **eNOS** – śródbłonkowa syntaza tlenu azotu; **ERK 1/2** – kinaza kinazy MAP regulowana przez sygnały zewnątrzkomórkowe 1/2; **FCS** – spektroskopia korelacji fluorescencji; **GS** – syntaza glikogenowa; **GSK3** – kinaza syntazy glikogenowej; **IGF** – insulinopodobny czynnik wzrostu; **IL-8** – interleukina 8; **IR** – receptor insulinowy; **IRS-1** – substrat receptora insulinowego 1; **JNK** – kinaza N-końca białka c-jun; **MALDI** – desorpcja laserowa z udziałem matrycy; **MAPK** – kinaza białkowa aktywowana mitogenami; **MCP-1** – białko będące chemoatraktantem monocytów; **MLC** – łańcuch lekki miozyny; **Na<sup>+</sup>K<sup>+</sup>-ATP-aza** – ATP-aza zależna od jonów sodu i potasu; **NF-κB** – czynnik jądrowy κB; **PAK** – kinaza aktywowana przez białko p21; **PI3K** – 3-kinaza fosfatydyloinozitolowa; **PKC** – kinaza białkowa C; **PP1** – fosfataza białkowa 1; **PPAR** – receptor aktywowany przez proliferatory peroksysomów; **RAGE** – receptor wiążący końcowe produkty glikacji białek; **ROCK** – kinaza białkowa związana z białkami Rho; **Rsk** – rybosomalna kinaza S6; **SPR** – powierzchniowy rezonans plazmonowy; **Src-PTK** – białkowa kinaza tyrozynowa Src; **TGF-β1** – transformujący czynnik wzrostu β1; **TNF-α** – czynnik martwicy nowotworów α; **TOF** – analizator czasu przelotu; **VCAM-1** – czynnik adhezyjny komórek śródbłonka 1; **VSMC** – komórki mięśni gładkich naczyń.

## WPROWADZENIE

Proinsulinowy peptyd C, zawierający w zależności od gatunku 26-31 aminokwasów [57,70,76,77] (tab. 1), jest uwalniany w trakcie proteolitycznej obróbki proinsuliny, zachodzącej z udziałem prokonwertaz 1 i 2 oraz karboksypeptydazy E w pęcherzykach sekrecyjnych aparatu Golgiego komórek β trzustki [10]. Jest to peptyd o charakterze kwasowym, zawierający w zależności od gatunku 5–7 kwaśnych aminokwasów. Najsilniej konserwowany ewolucyjnie jest C-końcowy pentapeptyd, w obrębie którego aminokwasy w pozycji C-1 (E) oraz C-5 (Q) są identyczne u większości ssaków [77] (tab. 1). Peptyd C stabilizuje łańcuchy A i B w cząsteczce proinsuliny, dzięki czemu możliwe jest tworzenie między nimi wiązań disiarczkowych [9]. Peptyd C tworzy struktury drugorzędowe w postaci zwrotów w części środkowej oraz na C-końcu cząsteczki [45]. Od chwili odkrycia peptydu C w 1967 r., przez długi czas uważano, że nie odgrywa znaczącej roli fizjologicznej w organizmie człowieka. W ostatnich latach pojawiły się prace wskazujące na istotną rolę peptydu C w funkcjonowaniu organizmu [24,29,44,59,81,84]. Jednak mechanizm działania proinsulinowego peptydu C pozostaje nadal do końca niewyjaśniony.

W pracy omówiono badania dotyczące działania peptydu C na procesy zachodzące w różnych komórkach organizmu oraz zwrócono uwagę zarówno na korzystne jak i szkodliwe efekty działania peptydu C do rozważenia w przypadku jego potencjalnego zastosowania w terapii cukrzycy.

## POTENCJALNE DROGI DZIAŁANIA PEPTYDU C

Wiadomo, że peptyd C wiąże się z błonami komórek β wysp Langerhansa trzustki szczura [15], a także komórek kanalików kory nerki, fibroblastów skóry oraz komórek śródbłonka naczyń krwionośnych [60]. Badania z zastosowaniem spektroskopii korelacji fluorescencji (FCS – fluorescence correlation spectroscopy) wykazały, że wysycenie w 50% miejsc wiązania peptydu C na powierzchni komórek kanalików kory nerki występuje w obecności 0,3 nM stężenia tego peptydu, natomiast pełne wysycenie – w stężeniu 0,9 nM (tj. odpowiadającemu w przybliżeniu jego fizjologicznemu stężeniu we krwi). Do jednej komórki może się związać maksymalnie 1000–1500 cząsteczek peptydu. Jest interesujące, że 5-aminokwasowy C-końcowy fragment peptydu C (EGSLQ) może wypierać związany z błonami znakowany rodaminą peptyd w takim samym stopniu, jak peptyd o naturalnej długości, co dowodzi, że C-końcowy pentapeptyd jest istotny w oddziaływaniach peptydu z miejscami jego

Tabela 1. Sekwencja aminokwasowa proinsulinowego peptydu C u różnych gatunków

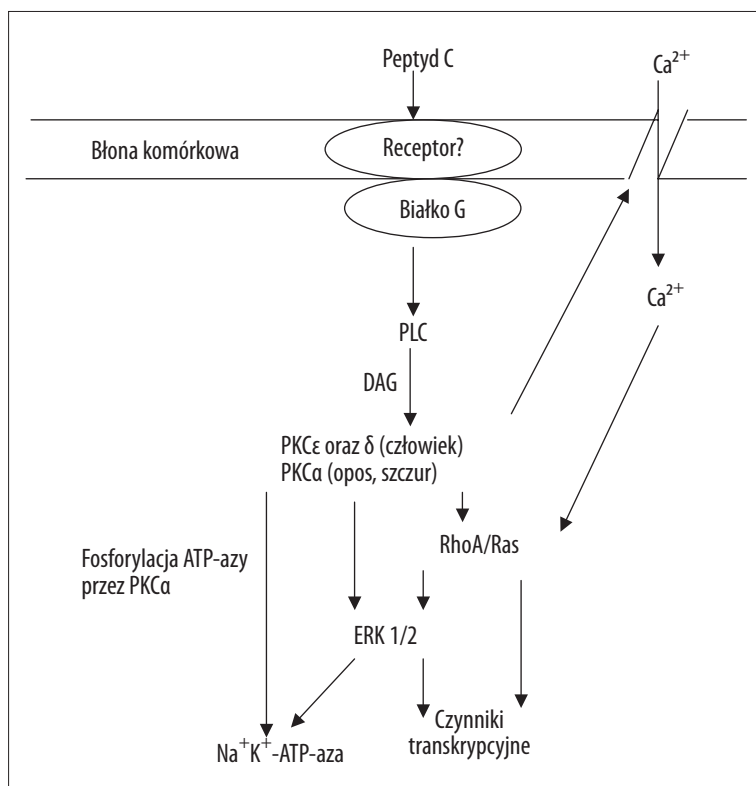
Gatunek	Skład aminokwasowy peptydu C
<b>Ssaki</b>	
Człowiek ( <i>Homo sapiens</i> )	EAEDLQVGVQVELGGGPGAGSLQPLALEGSLQ
Szympan ( <i>Pan troglodytes</i> )	EAEDLQVGVQVELGGGPGAGSLQPLALEGSLQ
Pies ( <i>Canis lupus familiaris</i> )	EVEDLQVRDVELAGAPGEGGLQPLALEGALQ
Bydłę ( <i>Bos taurus</i> )	EVEGPQVGALELAGGPGAGGLEGPQ
Świnia ( <i>Sus scrofa</i> )	EAENPQAGAVELGGGLGQLALALEGPPQ
Koń ( <i>Equus caballus</i> )	EAEDPQVGEVELGGGPGGLQLALAGPQ
Szczur ( <i>Rattus norvegicus</i> )	1) EVEDPQVPQLELGGGPEAGDLQTLALEVARQ 2) EVEDPQVAQLELGGGPGAGDLQTLALEVARQ
Królik ( <i>Oryctolagus cuniculus</i> )	EVEELQVQAEELGGGPGAGGLQPSALELALQ
Świnka morska ( <i>Cavia porcellus</i> )	ELEDPPQVEQTELMGLGAGGLQPLALEMALQ
Szynszyla ( <i>Chinchilla brevicaudata</i> )	ELEDPPQVGQADPGVVPEAGRLQPLALEMTLQ
<b>Ptaki</b>	
Kura ( <i>Gallus gallus</i> )	DVEQPLVSSPLRGEAGVLPFQEEYEK
Kaczka ( <i>Anas platyrhynchos</i> )	DVEQPLVNGPLHGEVGLPFQHEEYQ
<b>Ryby</b>	
Śluzica atlantycka ( <i>Myxine glutinosa</i> )	DTGALAAFLPLAYAEDNESQDDESIGINEVLKS
Żabnica ( <i>Lophius americanus</i> )	DVDQLLGLFPPKSGGAAAAGADNEVAEFAFKDQMEMMV

Na podstawie [70,76], zmodyfikowano.

wiązania w błonie. Właściwości takich nie wykazuje peptyd o tej samej sekwencji, ale złożony z D-aminokwasów oraz peptyd składający się z L-aminokwasów wchodzących w skład peptydu C, ale ułożonych w przypadkowej kolejności. Insulina oraz insulinopodobny czynnik wzrostu (IGF) I lub II również nie wpływają na wiązanie peptydu C do błon komórkowych [60]. Badania z użyciem powierzchniowego rezonansu plazmonowego (SPR – surface plasmon resonance) wykazały, że peptyd C nie wiąże się ani z receptorem insulinowym (IR), ani z receptorem wiążącym IGF-I [22]. Wiadomo jednak, że w wiązaniu peptydu C z błoną komórkową najważniejszy jest kwas glutaminowy w pozycji 27 [57].

Toksyna krztusćowa, powodująca ADP-rybozylację podjednostki  $\alpha$  białek G, hamuje wiązanie peptydu C z błoną komórkową [60]. Nasuwa się więc przypuszczenie, że peptyd C wiąże się z receptorem sprzężonym z białkami G i za jego pośrednictwem oddziałuje na procesy wewnątrzkomórkowe. Jednak dotąd nie udało się zidentyfikować tego receptora. Próby z zastosowaniem biblioteki ekspresyjnej fibroblastów płuc, jak i koimmunoprecypitacji połączonej ze spektrometrią mas MALDI-TOF dały również wyniki negatywne [43]. Natomiast badania z zastosowaniem SPR wykazały, że peptyd C wiąże się z czterema białkami wewnątrzkomórkowymi występującymi w lizacie komórek linii HEK-293: łańcuchem  $\alpha$ -spektryny, kinazą łańcucha lekkiego miozyny, kinazą serynową zależną od jonów wapnia i kalmoduliny oraz keratyną typu II [39].

Peptyd C może wnikać do wnętrza komórek. Po kilkadziesiąt minut od podania zlokalizowano go zarówno w cytoplazmie, jak i jądrze komórkowym komórek HEK-293 i 3T3. Transport peptydu C do komórek jest w znacznym stopniu hamowany przez wcześniejsze podanie toksyny krztusćowej. Także obniżenie temperatury do 4°C powoduje znaczny spadek wewnątrzkomórkowego stężenia peptydu. To pozwoliło wysnuć hipotezę, że peptyd C nie przenika bezpośrednio przez błonę, ale jest pobierany przez komórki w zależnym od energii procesie endocytozy [39]. Co więcej, internalizacja peptydu C do komórek śródbłonna oraz mięśni gładkich naczyń krwionośnych wydaje się odbywać za pośrednictwem endocytozy zależnej od receptora, a jego lokalizacja w komórce pokrywa się początkowo z występowaniem białka RAB5A, charakterystycznego dla wczesnych endosomów, a później także z umiejscowieniem białka Lamp1 w lizosomach, w których peptyd C ulega degradacji [42]. Na potwierdzenie tej hipotezy przemawia zmniejszone wnikanie peptydu C do komórek śródbłonna oraz mięśni gładkich naczyń w obecności związków chemicznych zaburzających endocytozę: monodansylokadaweryny (blokującej endocytozę) oraz nokodazolu (powodującego depolimeryzację mikrotubul). Ze względu na to, że endosomy oddziałują w komórce z określonymi strukturami, endocytoza włącza peptyd C w sieć wewnątrzkomórkowej komunikacji, tym samym umożliwiając pełnienie przez niego funkcji efektorowych bezpośrednio wewnątrz komórki [42]. Po wniknięciu do jądra peptyd C umiejscawia się w jąderkach, gdzie wiąże



Ryc. 1. Wpływ proinsulinowego peptydu C na aktywność ATP-azy zależnej od jonów sodu i potasu. Peptyd C prawdopodobnie za pośrednictwem receptora sprzężonego z białkiem G aktywuje fosfolipazę C (PLC), co prowadzi do uwolnienia diacyloglicerolu (DAG) i w efekcie aktywacji PKC, która bezpośrednio oraz za pośrednictwem kinazy ERK 1/2 oraz GTPaz z rodziny Rho aktywuje enzym (na podstawie [2,75,85], zmodyfikowano)

się z histonem H4 i przyspiesza acetylację lizyny w pozycji 16 łańcucha polipeptydowego, zmniejszając tym samym siłę jego oddziaływania z resztami fosforanowymi w cząsteczce DNA. Prowadzi to do rozluźnienia struktury chromatyny w pobliżu rejonu promotorowego genów kodujących rybosomalny RNA, zwiększając jego dostępność dla czynników transkrypcyjnych i prowadząc do zwiększenia ekspresji genów [40].

W warunkach *in vitro* insulina występuje w formie monomerów oraz oligomerów [30]. Badania z zastosowaniem tzw. pętli insulinowej wykazały, że peptyd C podawany pacjentom z cukrzycą typu 1 wraz z insuliną zwiększa o 66% ilość glukozy wykorzystywanej przez organizm. Jest to prawdopodobnie spowodowane zwiększoną biodostępnością insuliny, ponieważ *in vitro* peptyd C powoduje dezagregację oligomerów tworzonych przez cząsteczki insuliny [63]. Za wiązanie do insuliny odpowiada N-końcowy fragment peptydu C, a zwłaszcza glutaminian w pozycji 11 [50].

#### ZNACZENIE PEPTYDU C W REGULACJI AKTYWNOŚCI Na<sup>+</sup>K<sup>+</sup>-ATP-AZY W RÓŻNYCH KOMÓRKACH I TKANKACH

ATP-aza zależna od jonów sodu i potasu (Na<sup>+</sup>K<sup>+</sup>-ATP-aza) jest enzymem powszechnie występującym w błonach komórkowych. Jej zadaniem jest transport aktywny jonów sodu i potasu w przeciwnych kierunkach przez błonę komórkową z wykorzystaniem energii pochodzącej z hydrolizy ATP [23]. Indukowane rozwojem cukrzycy zmiany aktywności Na<sup>+</sup>K<sup>+</sup>-ATP-azy, prowadzą do nefropatii, neuropatii oraz zaburzeń w funkcjonowaniu erytrocytów. Po 6 tygodniach od wywołania cukrzycy typu 1, u szczurów rośnie aktywność Na<sup>+</sup>K<sup>+</sup>-ATP-azy w pętli Henlego nerek, natomiast wraz z postępem choroby, po kolejnych 6 tygodniach,

jej aktywność spada poniżej wartości kontrolnych [74]. Zanotowano także spadek aktywności Na<sup>+</sup>K<sup>+</sup>-ATP-azy w nerkach, erytrocytach oraz nerwach obwodowych szczura po 8 tygodniach od wywołania tej choroby [58].

W przeciwieństwie do peptydu o przypadkowej sekwencji aminokwasów, fizjologiczne stężenia peptydu C w postaci natywnej stymulują zarówno aktywność [86] jak i ekspresję Na<sup>+</sup>K<sup>+</sup>-ATP-azy [18]. Infuzja szczurom proinsulinowego peptydu C przez 7 dni zapobiega indukowanemu przez cukrzycę typu 1 zmniejszeniu ilości podjednostki  $\alpha 1$  pompy sodowo-potasowej [53]. Wykazano, że peptyd C stymuluje aktywność Na<sup>+</sup>K<sup>+</sup>-ATP-azy w komórkach kanalików kory nerki szczura za pośrednictwem receptora sprzężonego z białkami G, ponieważ toksyna krztuścowa znosi jego wpływ na aktywność tego enzymu [54]. W ramieniu wstępującym pętli Henlego szczura peptyd C stymuluje kinazę białkową C $\alpha$  (PKC $\alpha$ ), która zwiększa aktywność Na<sup>+</sup>K<sup>+</sup>-ATP-azy poprzez fosforylację jej podjednostki  $\alpha$  [75]. Peptyd ten stymuluje także PKC $\alpha$  w kanalikach kory nerki oposa [2]. Jednak w nerkowej linii komórkowej OK oposa aktywacja PKC przez estry forbolu prowadzi do hamowania aktywności Na<sup>+</sup>K<sup>+</sup>-ATP-azy, podczas gdy w linii nerkowej LLC-PK1 świni hamowanie nie jest widoczne [48]. U modelowych zwierząt cukrzycowych zwiększeniu aktywności PKC $\beta$  w siatkówce, kłębuszkach nerkowych, komórkach śródbłonna i mięśni szkieletowych towarzyszy obniżenie aktywności Na<sup>+</sup>K<sup>+</sup>-ATP-azy [18], podczas gdy inhibicja PKC zapobiega indukowanemu przez hiperglikemię obniżeniu aktywności w siatkówce [34]. W ludzkich kanalikach nerkowych peptyd C prowadzi do aktywacji PKC  $\delta$  i  $\epsilon$ , które fosforylują i aktywują kinazę kinazy MAP regulowaną przez sygnały zewnątrzkomórkowe (ERK 1/2), która z kolei aktywuje Na<sup>+</sup>K<sup>+</sup>-ATP-azę (ryc. 1) [85,86]. Tak więc wydaje się,

że w ludzkich komórkach kory nerki istnieją odrębne izoenzymy PKC, biorące udział w procesie transdukcji sygnału indukowanego przez hiperglikemię i peptyd C [18]. Jednakże tylko fizjologiczne stężenia peptydu C powodują gromadzenie ERK w jądrach i fosforylację czynników transkrypcyjnych niezależnie od stanu glikemicznego komórek. Długotrwałe działanie peptydu C obejmuje więc prawdopodobnie aktywację PKCε, gromadzenie się ERK1/2 w jądrach i aktywację jądrowych czynników transkrypcyjnych [18].

Co więcej, peptyd C hamuje reabsorpcję sodu w nerkach szczurów już po 2 tygodniach od stwierdzenia cukrzycy. Ponieważ w wyniku aktywacji  $\text{Na}^+\text{K}^+\text{-ATP-azy}$  w nerkach obserwuje się zwiększone zużycie tlenu, zahamowanie jej aktywności poprawia zaopatrzenie nerek w tlen, przeciwdziałając hipoksji towarzyszącej cukrzycy [51]. Jednak w świetle wyników badań *in vitro* z zastosowaniem kanałków nerkowych zdrowych szczurów peptyd C powoduje wzrost aktywności  $\text{Na}^+\text{K}^+\text{-ATP-azy}$  prawie o 50% [55]. W warunkach cukrzycy doświadczalnej w nerkach spada szybkość ekspresji podjednostki  $\alpha 1$  tego enzymu, powodując obniżenie ilości zarówno transkryptu, jak i białkowego produktu. Natomiast podawanie zwierzętom peptydu C od pierwszych dni po pojawieniu się cukrzycy wpływa na zachowanie ekspresji  $\text{Na}^+\text{K}^+\text{-ATP-azy}$  na poziomie kontrolnym [53].

Za regulację transkrypcji genu kodującego podjednostkę  $\alpha 1$   $\text{Na}^+\text{K}^+\text{-ATP-azy}$  u człowieka i szczura jest odpowiedzialny ZEB (AREB6) [83,27]. W ludzkich komórkach kory nerki fizjologiczne stężenia peptydu C powodują zwiększenie wiązania ZEB do DNA niezależnie od zawartości glukozy w pożywce. Natomiast inhibitory kinaz MAP i PKC uniemożliwiają indukowanie przez peptyd C wzrostu zarówno wiązania ZEB do DNA jak i ekspresję podjednostki  $\alpha 1$  pompy sodowo-potasowej [18]. Co więcej, peptyd C stymuluje również aktywność  $\text{Na}^+\text{K}^+\text{-ATP-azy}$  w wyniku translokacji podjednostek  $\alpha 1$  i  $\beta 1$  enzymu z endosomów do błon boczno-podstawnych z udziałem mechanizmu obejmującego udział PKC i ERK 1/2 [86].

W erytrocytach osób cierpiących na cukrzycę typu 1 aktywność  $\text{Na}^+\text{K}^+\text{-ATP-azy}$  jest o prawie 30% niższa w porównaniu z osobami zdrowymi [11]. Spadek aktywności  $\text{Na}^+\text{K}^+\text{-ATP-azy}$  towarzyszący cukrzycy powoduje prawdopodobnie zakłócenie równowagi sodowo-potasowej w erytrocytach, co prowadzi do ich deformacji i w związku z tym zwiększenia lepkości krwi, które jest przyczyną zaburzeń w przepływie krwi w małych naczyniach krwionośnych [17]. Podawanie peptydu C pacjentom z cukrzycą typu 1 powoduje wzrost aktywności  $\text{Na}^+\text{K}^+\text{-ATP-azy}$  o 100% [16]. W obecności strofantyny, inhibitora tego enzymu, nie obserwuje się wpływu peptydu C na cofanie zmian deformacyjnych erytrocytów [17]. W przeciwieństwie do 9-aminokwasowego środkowego fragmentu cząsteczki, C-końcowe fragmenty peptydu C o długości 5 lub 6 aminokwasów działają w taki sam sposób na kształt erytrocytów jak pełnej długości peptyd C [20]. U pacjentów z cukrzycą typu 2 aktywność tego enzymu zależy od stopnia zaawansowania choroby i sposobu leczenia. We wczesnych stadiach cukrzycy typu 2, gdy stężenie insuliny i peptydu C we krwi jest wysokie i podawane są doustnie biguanidy i/lub pochodne sulfonilomocznika, aktywność

$\text{Na}^+\text{K}^+\text{-ATP-azy}$  jest zdecydowanie większa (zbliżona do osób zdrowych) od oznaczanej w bardziej zaawansowanych stadiach choroby, gdy wskutek wyczerpania wyseppek Langerhansa w trzustce stężenia insuliny i peptydu C spadają poniżej stężenia fizjologicznego występującego u osób zdrowych. W różnych stadiach cukrzycy typu 2 zmianom stężenia peptydu C we krwi towarzyszą więc zmiany aktywności  $\text{Na}^+\text{K}^+\text{-ATP-azy}$  [11].

Rozwojowi cukrzycy typu 1 towarzyszy także obniżenie aktywności  $\text{Na}^+\text{K}^+\text{-ATP-azy}$  w komórkach nerwowych oraz spadek szybkości przewodzenia impulsów nerwowych w obwodowym układzie nerwowym. Podawanie chorym peptydu C przywraca tym procesom szybkość do wartości występujących u osób zdrowych [26].

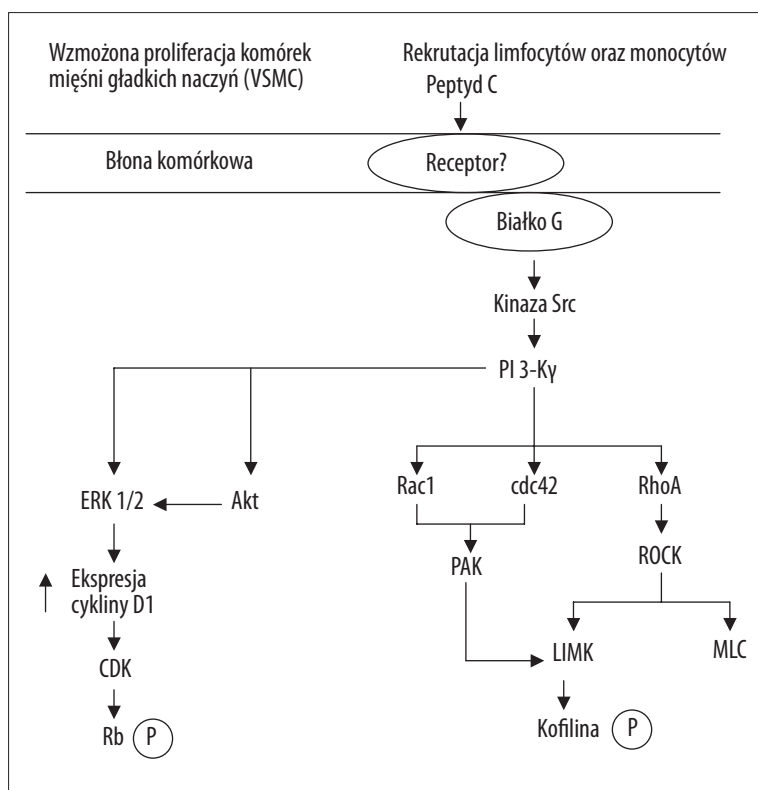
### ZRÓŻNICOWANE DZIAŁANIE PEPTYDU C NA FUNKCJONOWANIE ŚRÓDBŁONKA NACZYŃ

Rozwój cukrzycy prowadzi do poważnych zaburzeń w funkcjonowaniu naczyń krwionośnych (angiopatie), powstających zarówno w małych (mikroangiopatie), jak i dużych naczyniach (makroangiopatie). W komórkach śródbłonna naczyń krwionośnych podwyższone stężenie glukozy oraz towarzysząca cukrzycy zwiększona zawartość czynnika martwicy nowotworów  $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) indukują ekspresję wielu czynników charakterystycznych dla stanu zapalnego, takich jak:

- czynnik adhezyjny komórek śródbłonna (VCAM-1), który jest obecny na powierzchni komórek śródbłonna i powoduje rekrutację monocytów we wczesnych etapach rozwoju stanu zapalnego,
- interleukina 8 (IL-8) oraz
- białko będące chemoatraktantem monocytów (MCP-1).

Peptyd C przeciwdziała rozwojowi stanu zapalnego, hamując translokację do jądra czynnika jądrowego  $\kappa\text{B}$  (NF- $\kappa\text{B}$ ), odpowiedzialnego za indukcję ekspresji białek VCAM-1, IL-8 oraz MCP-1, uczestniczących w inicjowaniu procesów zapalnych [41]. Wiadomo także, że peptyd C przeciwdziała stresowi oksydacyjnemu w komórkach śródbłonna naczyń poprzez hamowanie aktywności oksydazy NADPH [8]. Wyniki badań z zastosowaniem komórek linii 3T3 wskazują jednak, że peptyd C, w sposób zależny od PKC oraz NF- $\kappa\text{B}$ , indukuje ekspresję cyklooksygenazy 2 (COX-2), enzymu katalizującego początkowy etap syntezy prostaglandyn, przyczyniając się w ten sposób do rozwoju stanu zapalnego [33].

W warunkach podwyższonego stężenia peptydu C we krwi, towarzyszącego wczesnym stadiom cukrzycy typu 2, następuje jego gromadzenie w błonie wewnętrznej naczyń krwionośnych. Ponieważ peptyd C jest silnym chemoatraktantem monocytów (na poziomie zbliżonym do MCP-1), powoduje ich gromadzenie w ścianie naczyń krwionośnych, przyczyniając się w ten sposób do rozwoju stanu zapalnego, będącego pierwszym etapem rozwoju miażdżycy. Peptyd C oddziałuje na monocyty prawdopodobnie za pośrednictwem receptora sprzężonego z białkami G, a w przekazywaniu sygnału uczestniczy 3-kinaza fosfatydyloinozitolowa (PI3K), bo zarówno toksyna krztuścowa, jak i wortmaniina (inhibitor PI3K) znosi skutki działania peptydu [46]. Ponadto peptyd C indukuje migrację limfocytów  $\text{CD4}^+$  *in vitro* z efektem zbliżonym do obserwowanego w obecności



Ryc. 2. Ścieżki przekazywania sygnału od peptydu C w limfocytach T oraz mięśniach gładkich naczyń krwionośnych. Prawdopodobnie za pośrednictwem receptora sprzężonego z białkiem G peptyd C stymuluje kinazę Src, która aktywuje PI3K. W limfocytach T prowadzi to do aktywacji GTPaz z rodziny Rho: 1) RAC1 oraz cdc42, które za pośrednictwem kinazy PAK stymulują kinazę LIM (LIMK), a ta fosforyluje i tym samym hamuje aktywność kofiliny, stabilizując filamety aktywne oraz 2) RhoA aktywuje kinazę ROCK, która fosforyluje łańcuchy lekkie miozyny (MLC). Efektem jest reorganizacja cytoszkieletu, konieczna podczas migracji komórek. W komórkach mięśni gładkich naczyń aktywacja kinazy ERK 1/2 za pośrednictwem PI3K prowadzi do wzrostu ekspresji cykliny D1 i fosforylacji białka Rb przez kinazę zależną od cyklin (CDK), tym samym znosząc jego hamujące działanie i wprowadzając komórki w fazę S cyklu komórkowego (na podstawie [1,80], zmodyfikowano)

cytokin, które są chemoatraktantami limfocytów. Podobnie jak w przypadku monocytów, efekt ten jest znoszony przez toksynę krztuścową oraz inhibitory PI3K. Działanie peptydu C jest hamowane przez tiazolidynediony, aktywatory receptorów aktywowanych przez proliferatory peroksy-somów  $\gamma$  (PPAR $\gamma$ ) [79]. Wiadomo, że za pośrednictwem PI3K peptyd C aktywuje kaskadę sygnalizacyjną, powodując fosforylację i skracanie łańcuchów lekkich miozyny, a także inaktywację kofiliny. Ponieważ kofilina powoduje depolimeryzację filamentów aktynowych, w obecności peptydu C są one stabilizowane [1]. We wczesnych stadiach cukrzycy typu 2 peptyd C indukuje także proliferację komórek mięśni gładkich naczyń, która towarzyszy rozwojowi płytki miażdżycowej. Działanie to odbywa się za pośrednictwem PI3K oraz ERK1/2 i prowadzi do wzrostu ekspresji cykliny D1 oraz fosforylacji białka Rb, indukując tym samym podziały komórkowe (ryc. 2) [80].

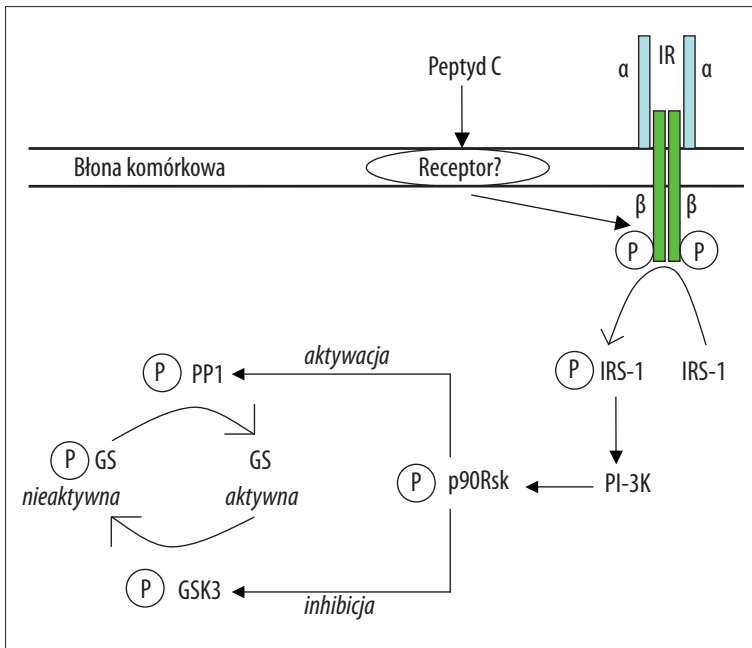
W bydłych komórkach śródbłonna aorty hodowanych w kulturach pierwotnych peptyd C dwukrotnie zwiększa syntezę tlenu azotu wyłącznie w obecności kationów wapnia. Dlatego wnioskowano, że stymulacja syntezy tlenu azotu jest wyraźnie zwiększona przez stymulację transportu wapnia do wnętrza komórek. Jednak peptyd C nie wpływa na zawartość mRNA kodującego syntazę. Natomiast w szczurzych komórkach śródbłonna aorty peptyd C powoduje wzrost zawartości transkryptu oraz białka syntazy i w konsekwencji dwukrotny wzrost szybkości syntezy tlenu azotu. Działanie to odbywa się za pośrednictwem kinazy ERK, ponieważ dodanie inhibitora tej kinazy znosi stymulujące działanie peptydu [32]. Aktywacja syntazy tlenu azotu przez peptyd C nie zachodzi poprzez fosforylację za pośrednictwem kinazy Akt, zarówno w bydłych [82], jak i szczurzych [32] komórkach śródbłonna aorty. Skutków działania peptydu nie zaobserwowano w ludzkich

komórkach śródbłonna żyły pępowinowej hodowanych w kulturach pierwotnych, prawdopodobnie z powodu utraty receptorów w trakcie prowadzenia hodowli [82].

Peptyd C hamuje towarzyszący cukrzycy typu 1 wzrost zawartości syntazy tlenu azotu w śródbłonu naczyń krwionośnych kłębuszków nerkowych [31]. W warunkach *in vitro* powoduje zmniejszenie o 27% średnicy naczynia aferentnego (doprowadzającego krew do kłębuszka), pobranego z myszy z cukrzycą typu 1, w porównaniu ze zmniejszoną średnicą o 4% u osobnika zdrowego. Działanie takie jest znoszone przez dodanie swoistego inhibitora kinazy Rho, wskazując na jej udział w działaniu peptydu C [52]. Jednak u szczurów z cukrzycą typu 1 peptyd C powoduje rozszerzanie naczynia eferentnego (odprowadzającego krew z kłębuszka), czego następstwem jest obniżenie ciśnienia krwi oraz ograniczenie hiperfiltracji kłębuszkowej. Mechanizm działania peptydu na funkcjonowanie naczyń krwionośnych w nerkach nie został dotąd wyjaśniony [51].

#### WPLYW PEPTYDU C NA POBIERANIE GLUKOZY I SYNTEZĘ GLIKOGENU W MIĘŚNIACH

Peptyd C i insulina, podawane zarówno oddzielnie jak i razem, stymulują transport glukozy do ludzkich mięśni szkieletowych *in vitro* w podobnym stopniu, co mogłoby wskazywać, że ścieżki przekazywania sygnału indukowane przez peptyd C pokrywają się z aktywowanymi przez insulinę. Jednak peptyd C nie wiąże się z receptorem insulinowym ani nie wpływa na aktywność kinazy tyrozynowej tego receptora [88]. Działanie peptydu C było obserwowane zarówno w mięśniach pozyskanych od osób zdrowych, jak i chorych na cukrzycę typu 1 [88]. Co więcej, C-końcowy tetra- oraz pentapeptyd stymulują wykorzystanie glukozy przez szczury z cukrzycą typu 1 podobnie do peptydu



Ryc. 3. Mechanizm działania peptydu C na syntezę glikogenu w mioblastach L6 szczura. Peptyd C wpływa na autofosforylację podjednostek  $\beta$  receptora insulinowego, co prowadzi do fosforylacji IRS-1, a następnie aktywacji PI3K oraz kinazy p90Rsk. Enzym ten fosforyluje podstawowe dla syntezy glikogenu enzymy regulatorowe: GSK (powodując jej dezaktywację) oraz PP1 (powodując jej aktywację). Prowadzi to do defosforylacji i aktywacji GS (na podstawie [19], zmodyfikowano)

C naturalnej długości, podczas gdy fragmenty zawierające N-końcowe lub środkowe fragmenty sekwencji aminokwasowej nie wywołują tego efektu [62].

Podanie szczurom z cukrzycą streptozotocynową N-monometylo-L-argininy, inhibitora syntazy tlenu azotu, powoduje ograniczenie stymulującego działania peptydu na wykorzystanie glukozy przez organizm aż o 85% [35], ze względu na zmniejszenie o 50% pobierania glukozy przez mięśnie szkieletowe w czasie skurczu [47].

Peptyd C w stężeniu 3 nM, podobnie jak 10 nM insulina, prawie dwukrotnie stymuluje syntezę glikogenu w izolowanych mioblastach L6 szczura. Jest interesujące, że zarówno stężenia niższe, jak i wyższe od 3 nM miały mniejsze działanie. Mechanizm stymulacji jest tylko częściowo podobny do ścieżki sygnałowej indukowanej przez insulinę (ryc. 3). Peptyd C wpływa na autofosforylację podjednostek  $\beta$  receptora insulinowego, co prowadzi do fosforylacji substratu receptora insulinowego (IRS) 1, a następnie aktywacji PI3K, a następnie kinazy p90Rsk. Enzym ten fosforyluje podstawowe dla syntezy glikogenu enzymy regulatorowe: kinazę syntazy glikogenowej (GSK) (powodując jej dezaktywację) oraz fosfatazę białkową 1 (PP1) (powodując jej aktywację). Prowadzi to do defosforylacji i aktywacji syntazy glikogenowej (GS) (ryc. 3) [19]. Wykazano jednak, że w izolowanym mięśniu łydki (soleus) myszy peptyd C nie wpływa na pobieranie glukozy, syntezę glikogenu ani aktywność GS [64].

#### ROLA PEPTYDU C W PRZECIWDZIAŁANIU NEUROPATII TOWARZYSZĄCEJ CUKRZYCY

Cukrzycowa neuropatia różni się w typie 1 i 2 cukrzycy. Typ 1 cukrzycy charakteryzuje się nieprawidłowościami strukturalnymi nerwów, które nie występują zazwyczaj w cukrzycy typu 2. Są to: atrofia aksonów oraz pewne charakterystyczne zmiany prowadzące do postępującego pogarszania się szybkości przewodnictwa nerwowego [72]. U pacjentów z cukrzycą typu 2 degeneracja aksonów

postępuje powoli i towarzyszy jej brak lub tylko minimalne nieprawidłowości w strukturze nerwów [72]. Natomiast u chorych z wieloletnią cukrzycą typu 2, którzy charakteryzują się brakiem wydzielania insuliny i peptydu C, neuropatia będzie najprawdopodobniej charakteryzowała się cechami podobnymi do występujących w warunkach cukrzycy typu 1.

Badania neurologiczne kończyn dolnych u pacjentów z cukrzycą ujawniają zwykle brak odczuwania wibracji, dotyku, bólu i temperatury oraz odruchu skokowego, a czasami rozszerzone żyły na grzbietowej powierzchni stopy, suchą skórę i modzele na spodniej stronie stopy. Stwierdzono, że najbardziej wyraźnym defektem czuciowym w warunkach cukrzycy typu 1 jest znaczne podniesiony próg odczuwania zimna górnej powierzchni stopy [25] oraz dystalna symetryczna polineuropatia (DSPN) [87]. Charakteryzuje się ona stopniowym postępującym zmian strukturalnych aksonów, powodując ich degenerację [73]. Zmiany te zaznaczają się najbardziej w kończynach dolnych. W dodatku do objawów neuropatii układu autonomicznego, można również zauważyć defekty układu sercowo-naczyniowego i pokarmowego, sugerujące zaburzenia funkcji peryferycznego układu współczulnego. Liczba przypadków DSPN wśród chorych na cukrzycę wynosi około 30% [65]. Neuropatii cukrzycowej towarzyszy zawsze obniżona aktywność  $\text{Na}^+\text{K}^+$ -ATP-azy i anomalie mikronaczyniowe [6].

U pacjentów cierpiących z powodu cukrzycy oraz modelowych zwierząt cukrzycowych, podawanie peptydu C w fizjologicznych stężeniach wpływa na poprawę funkcjonalnych i strukturalnych właściwości nerwów obwodowych [13,28,69], jak również ochrania przed indukowaną przez hiperglikemię apoptozą i stymuluje proliferację komórek nerwowych [37].

U pacjentów z cukrzycą typu 1 podawanie peptydu C powoduje poprawę funkcji nerwów obwodowych, ocenianą na podstawie przewodnictwa nerwów czuciowych we wczesnych stadiach neuropatii. Dysfunkcja nerwów

autonomicznych jest zmniejszona po podawaniu peptydu C przez 3 miesiące. Poprawie funkcjonowania nerwów towarzyszy przywrócenie lub powstrzymanie zmian strukturalnych nerwów oraz polepszenie śródnerwowego przepływu krwi i wzrost aktywności  $\text{Na}^+\text{K}^+\text{-ATP-azy}$  [14]. Podobnie w badaniach *in vivo* prowadzonych na szczurach BB/W fizjologiczne stężenia peptydu C zwiększają aktywność  $\text{Na}^+\text{K}^+\text{-ATP-azy}$  nerwu kulszowego [69].

U szczurów z cukrzycą typu 1 peptyd C hamuje apoptozę w neuronach hipokampa na skutek obniżenia ekspresji białka Bax oraz kaspazy 3. Przeciwdziała także uszkodzeniom DNA wywołanym przez stres oksydacyjny [66]. W linii komórkowej SH-SY5Y (neuroblastoma), peptyd C wzmacnia antyapoptotyczne działanie insuliny poprzez wzrost ekspresji białka Bcl-2 oraz hamowanie fosforylacji i aktywacji kinazy JNK [37]. Działa również korzystnie w warunkach cukrzycowej neuropatii, pobudzając rozwój neuronów, ich regenerację i w konsekwencji ich przeżywanie [67], a także zapobiega apoptozie neuronów [36]. W astrocytach hipokampa szczura peptyd C hamuje indukowaną przez cukrzycę ekspresję wielu czynników prozapalnych: receptora wiążącego końcowe produkty glikacji białek (RAGE), TNF- $\alpha$  oraz interleukiny 1, 2 i 6. TNF- $\alpha$  hamuje fosforylację kinazy białkowej Akt w szlaku przekazywania sygnału indukowanego insuliną, zmniejszając tym samym antyapoptotyczne działanie tego hormonu [68].

Peptyd C nie wpływa na towarzyszący cukrzycy stres oksydacyjny w nerwach obwodowych. U szczurów z cukrzycą typu 1 występuje podwyższona peroksydacja lipidów oraz spadek aktywności dysmutazy ponadtlenkowej i peroksydazy w porównaniu ze zwierzętami zdrowymi. Podawanie zwierzętom peptydu C nie wpływa na te procesy [71].

#### **BADANIA KLINICZNE I MOŻLIWOŚCI ZASTOSOWANIA PEPTYDU C W TERAPII**

Badania kliniczne dotyczące wpływu peptydu C prowadzono na pacjentach z cukrzycą typu 1, ponieważ w warunkach całkowitego deficytu tego peptydu łatwo jest ocenić jego działanie biologiczne. Typ 2 cukrzycy jest związany z insulinopornością i podwyższonym stężeniem insuliny i peptydu C w krwi. Nie ulega wątpliwości, że u wielu pacjentów rozwija się nefropatia i neuropatia w obecności podwyższonego stężenia peptydu C.

Istotne różnice występują również w przypadku różnych komplikacji towarzyszących cukrzycy typu 1 i 2. U pacjentów z cukrzycą typu 1 neuropatia postępuje szybko i jest związana z występowaniem typowych osłonek mieliniowych i aksonalnych zaburzeń nieobecnych w cukrzycy typu 2 [78]. Rozwój nefropatii w cukrzycy typu 1 jest znacznie lepiej udokumentowany niż u pacjentów z cukrzycą typu 2. Podobne zmiany morfologii nerek są obserwowane w cukrzycy typu 1, podczas gdy w cukrzycy typu 2 zmiany są bardziej heterogenne w miarę postępującego twardnienia tętnic i niedokrwiennej nefropatii [61]. Wydaje się jednak prawdopodobne, że zalecanie właściwym pacjentom przyjmowania proinsulinowego peptydu C może zmniejszyć rozwój komplikacji cukrzycowych. Egzogenny peptyd C wykazuje bowiem korzystne efekty chroniące przed rozwojem zaburzeń towarzyszących cukrzycy u pacjentów z typem 1 tej choroby, a prawdopodobnie

również u pacjentów z typem 2 cukrzycy, charakteryzujących się brakiem peptydu C. Jednakże peptyd C, wydzielany w nadmiernych ilościach może również nie zapobiegać, lecz pobudzać rozwój miażdżycy.

Preparaty rekombinowanej insuliny, stosowane w leczeniu cukrzycy, nie zawierają peptydu C. Badania przedkliniczne i kliniczne wskazują, że brak tego peptydu może przyspieszać rozwój komplikacji towarzyszących cukrzycy, podczas gdy peptyd C może wywierać korzystne działanie w zapobieganiu ich generowaniu. U pacjentów z cukrzycą typu 1 leczonych przez około 10 lat insuliną, wykazujących zmniejszoną szybkość przewodnictwa nerwów czuciowych i motorycznych, podawanie peptydu C (1,8 mg dziennie) przez 3 miesiące powodowało stopniowe zwiększenie szybkości przewodzenia nerwu łydki do 2,7 m/s, co odpowiadało poprawie o 80% w porównaniu z wartością początkową, tj. w warunkach deficytu peptydu C. Zmianie tej towarzyszyła również poprawa odczuwania wibracji przez grzbietową stronę stóp, chociaż ci pacjenci zachowali prawidłowy próg jej odczuwania. Jest to również zgodne z poprawą funkcji nerwu łydki, ponieważ w odczuwaniu wibracji w tym rejonie pośredniczą włókna nerwu łydki [14].

Wykazano, że peptyd C powstrzymuje rozwój cukrzycowych neuropatii na skutek poprawy śródnerwowego przepływu krwi, zapobiegania apoptozie komórek nerwowych i obrzmieniu aksonów. Jednakże stwierdzono odkładanie się peptydu C w płytkach miażdżycowych u cierpiących z powodu cukrzycy pacjentów, charakteryzujących się hiperinsulinemią, a wiadomo, że peptyd C indukuje wytwarzanie czynników prozapalnych, takich jak np. NF- $\kappa\text{B}$ , a także syntazy tlenku azotu i cyklooksygenazy 2. Dane te wskazują, że stosowanie w terapii cukrzycy peptydu C może wywołać działania niepożądane, które mogą przyspieszać rozwój komplikacji towarzyszących cukrzycy. Czynniki NF- $\kappa\text{B}$  jest również istotny w procesie rozwoju i różnicowania komórek nerwowych. W neuronach może pełnić funkcję zarówno pro- jak i antyapoptotyczną w zależności od rodzaju komórek i ich stanu fizjologicznego [4,12,56]. Zdolność peptydu C do poprawy śródnerwowego przepływu krwi, aktywności  $\text{Na}^+\text{K}^+\text{-ATP-azy}$  oraz stymulacji czynników neurotroficznych świadczy o pozytywnym działaniu tego peptydu. Jednakże postuluje się, że podawanie peptydu C powinno być rozpoczęte zanim nastąpi poważne pogorszenie funkcjonowania nerwów, objawiające się pojawieniem się ran.

Badania dotyczące roli peptydu C w regulacji metabolizmu dostarczyły danych do wytypowania miejsc działania potencjalnych nowych leków przeciwcukrzycowych oraz wytyczyły kierunki kolejnych badań np. efekty wywoływane przez peptyd C na wytwarzanie tlenku azotu nie są wyłączne w odniesieniu do cukrzycy, lecz również w stosunku do rozwoju stanu zapalnego. Co więcej, skuteczność peptydu C w zapobieganiu i odwracaniu komplikacji cukrzycowych wymaga dalszych badań, zwłaszcza na ludziach. Ochrona bowiem przez peptyd C przed dysfunkcją naczyń krwionośnych, indukowaną przez cukrzycę była badana na małej liczbie przypadków [21,28]. Zatem muszą być przeprowadzone badania na dużą skalę w celu określenia bezpieczeństwa pacjentów poddawanych długoterminowemu traktowaniu z zastosowaniem peptydu C. Jest bardzo prawdopodobne, że podawanie tego



peptydu w dawkach fizjologicznych zniweluje jego niekorzystne działanie na funkcjonowanie komórek śródłonka i w konsekwencji zmniejszy ryzyko rozwoju komplikacji cukrzycowych. Na poparcie tej hipotezy przemawiają korzystne efekty wyłącznie fizjologicznych stężeń peptydu C na stymulację ekspresji Na<sup>+</sup>K<sup>+</sup>-ATP-azy, wywoływane przez aktywację czynnika transkrypcyjnego ZEB w komórkach ludzkich kanalików nerkowych [18].

## UWAGI KOŃCOWE

Podsumowując, na podstawie dotychczasowych wyników badań można sugerować, że peptyd C ma istotne znaczenie fizjologiczne. Wiążąc się swoiście do różnych błon komórkowych, a zwłaszcza do błony komórek śródłonka, nerek i neuronów, powoduje aktywację transdukcji sygnałów i wywołuje stymulację syntazy tlenu azotu i Na<sup>+</sup>K<sup>+</sup>-ATP-azy w komórkach śródłonka. Wpływa na aktywację wielu czynników transkrypcyjnych oraz neurotroficznych. Podawanie peptydu C pacjentom z cukrzycą typu 1, którzy charakteryzują się brakiem sekrecji zarówno insuliny jak i peptydu C, powoduje zwiększanie przepływu krwi w różnych tkankach oraz poprawę funkcjonowania nerek i komórek nerwowych. Pacjenci, u których w niewielkim stopniu jest utrzymana sekrecja insuliny i peptydu C w komórkach β wysp Langerhansa trzustki, są znacznie mniej podatni na rozwój komplikacji mikrocukrzycowych w nerkach, oczach i układzie nerwowym.

Peptyd C ma również istotne znaczenie w regulacji proliferacji komórek i apoptozy, głównie w wyniku jego działania na czynniki związane z powstawaniem stanu zapalnego, takie jak NF-κB i TNF-α. Wykazuje efekty antyproliferacyjne w komórkach mięśni gładkich oraz korzystne działanie w warunkach cukrzycowej neuropatii, podczas gdy jego działanie na komórki nerek pozostaje nadal kontrowersyjne. Co więcej, działa niekorzystnie na funkcjonowanie komórek śródłonka na skutek aktywacji szlaku transdukcji sygnału obejmującego PI3K.

C-peptyd hamuje także stymulowaną przez transformujący czynnik wzrostu β1 (TGF-β1) ekspresję receptorów wiążących ten czynnik [24] oraz stymuluje ekspresję receptora TNF-α2 i czynnika NF-κB, indukując procesy antyapoptotyczne [3]. Co więcej, podawanie peptydu C zwierzętom w stanie wstrząsu krwotocznego zmniejsza stopień wzrostu stężenia kreatyniny w osoczu i aktywności mieloperoksydazy, czemu towarzyszy obniżona ekspresja podjednostki c-Fos oraz zmniejszona aktywacja nerkowych kinaz prozapalnych (ERK 1/2 oraz kinazy c-Jun) [7]. Analiza zmian ekspresji genów w świeżo izolowanych komórkach kanalików nerkowych szczurów z cukrzycą streptozotocynową wykazała, że po dwóch godzinach inkubacji w obecności

peptydu C następuje obniżenie transkrypcji genów, które są odpowiedzialne za rozwój chorób naczyniowych i stanów zapalnych [38]. Badania te potwierdzają działanie nefroprotekcyjne peptydu C w warunkach cukrzycy typu 1 i dostarczają dowodów na jego aktywność transkrypcyjną w komórkach proksymalnych kanalików nerkowych. Dlatego jest rozważane stosowanie peptydu C w terapii, mającej na celu utrzymanie prawidłowego funkcjonowania nerek w warunkach cukrzycy.

Ze względu na normalizowanie przez peptyd C pobierania i zużycia tlenu przez komórki nerkowych kanalików proksymalnych, usprawnianie przepływu krwi w naczyniach oraz działanie na angiogenezę [51], sugeruje się także jego wykorzystanie w terapii cukrzycowych neuropatii i retinopatii. Co więcej, w warunkach zwiększonego stężenia glukozy peptyd C zmniejsza wytwarzanie wolnych rodników tlenowych w komórkach śródłonka na skutek obniżenia aktywności oksydazy NADPH, GTP-azy i w konsekwencji błonowego białka RAC-1 wiążącego GTP [8]. Można więc przypuszczać, że peptyd C działa jak cząsteczka przeciwutleniacza, uniemożliwiająca translokację białka RAC-1 do błony i w konsekwencji aktywację oksydazy NADPH, zapewniając jednocześnie ochronę komórek śródłonka przed indukowaną przez glukozę apoptozą. Peptyd C hamuje także apoptozę w izolowanych ludzkich wysepkach Langerhansa poprzez stymulację ekspresji białka antyapoptotycznego Bcl-2 [5]. Co więcej, w komórkach kanalików nerkowych ośosa TNF-α stymuluje szybkość apoptozy o 50%, a podawanie peptydu C znosi ten efekt [3].

Na podstawie dotychczas uzyskanych wyników badań wydaje się, że cukrzycę typu 1 można traktować jako chorobę wynikającą z niedoboru dwóch hormonów i proponować stosowanie w jej leczeniu zarówno insuliny jak i peptydu C. Bardziej skomplikowane wydaje się stosowanie peptydu C u pacjentów z cukrzycą typu 2, ze względu na przedłużone występowanie jego podniesionego stężenia u pacjentów wykazujących insulinooporność i w związku z tym możliwość pojawienia się efektów miażdżycowych. Należy więc w tym przypadku zachować daleko posuniętą ostrożność i stosować peptyd C w leczeniu wyłącznie osób z jego niedoborem. Jego działanie jest bez wątpienia mniej znaczące niż insuliny i wymaga kontroli funkcji komórek śródłonka [49,78]. Jest prawdopodobne, że podawanie tego peptydu w dawkach fizjologicznych zniweluje jego niekorzystne działanie na funkcjonowanie komórek śródłonka i w konsekwencji zmniejszy ryzyko rozwoju komplikacji cukrzycowych. Brak peptydu C ma bowiem z pewnością istotne znaczenie w patogenezie cukrzycowej retinopatii, neuropatii i neuropatii. A zatem, potrzebne są jeszcze długotrwałe badania kliniczne, by użycie peptydu C w leczeniu było bezpieczne.

## PIŚMIENICTWO

- [1] Aleksic M., Walcher D., Giehl K., Bach H., Grüb M., Durst R., Hombach V., Marx N.: Signalling processes involved in C-peptide-induced chemotaxis of CD4-positive lymphocytes. *Cell. Mol. Life Sci.*, 2009; 66: 1974–1984
- [2] Al-Rasheed N.M., Meakin F., Royal E.L., Lewington A.J., Brown J., Willars G.B., Brunskill N.J.: Potent activation of multiple signalling pathways by C-peptide in opossum kidney proximal tubular cells. *Diabetologia*, 2004; 47: 987–997
- [3] Al-Rasheed N.M., Willars G.B., Brunskill N.J.: C-peptide signals via Gαi to protect against TNF-α-mediated apoptosis of opossum kidney proximal tubular cells. *J. Am. Soc. Nephrol.*, 2006; 17: 986–995
- [4] Brand K., Page S., Rogler G., Bartsch A., Brandl R., Knuechel R., Page M., Kaltschmidt C., Baeuerle P.A., Neumeier D.: Activated transcription factor nuclear factor-kappa B is present in the atherosclerotic lesion. *J. Clin. Invest.*, 1996; 97: 1715–1722

- [5] Bugliani M., Torri S., Lupi R., Del Guerra S., Grupillo M., Del Chiaro M., Mosca F., Boggi U., Del Prato S., Marchetti P.: Effects of C-peptide on isolated human pancreatic islet cells. *Diabetes Metab. Res. Rev.*, 2007; 23: 215–219
- [6] Cameron N.E., Eaton S.E., Cotter M.A., Tesfaye S.: Vascular factors and metabolic interactions in the pathogenesis of diabetic neuropathy. *Diabetologia*, 2001; 44: 1973–1988
- [7] Chima R.S., Maltese G., Lamontagne T., Piraino G., Denenberg A., O'Connor M., Zingarelli B.: C-peptide ameliorates kidney injury following hemorrhagic shock. *Shock*, 2011; 35: 524–529
- [8] Cifarelli V., Geng X., Styche A., Lakomy R., Trucco M., Luppi P.: 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*, 2011; 54: 2702–2712
- [9] Clark J.L., Cho S., Rubenstein A.H., Steiner D.F.: Isolation of a proinsulin connecting peptide fragment (C-peptide) from bovine and human pancreas. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 1969; 35: 456–461
- [10] Davidson H.W.: (Pro)insulin processing: a historical perspective. *Cell Biochem. Biophys.*, 2004; 40(Suppl.3): 143–157
- [11] De La Tour D.D., Raccach D., Jannot M.F., Coste T., Rougerie C., Vague P.: Erythrocyte Na/K ATPase activity and diabetes: relationship with C-peptide level. *Diabetologia*, 1998; 41: 1080–1084
- [12] Denk A., Wirth T., Baumann B.: NF-kappaB transcription factors: critical regulators of hematopoiesis and neuronal survival. *Cytokine Growth Factor Rev.*, 2000; 11: 303–320
- [13] Ekberg K., Brismar T., Johansson B.L., Jonsson B., Lindström P., Wahren J.: Amelioration of sensory nerve dysfunction by C-peptide in patients with type 1 diabetes. *Diabetes*, 2003; 52: 536–541
- [14] Ekberg K., Johansson B.L.: Effect of C-peptide on diabetic neuropathy in patients with type 1 diabetes. *Exp. Diabetes Res.*, 2008; 2008: 457912
- [15] Flatt P.R., Swanson-Flatt S.K., Hampton S.M., Bailey C.J., Marks V.: Specific binding of the C-peptide of proinsulin to cultured B-cells from a transplantable rat islet cell tumor. *Biosci. Rep.*, 1986; 6: 193–199
- [16] Forst T., De La Tour D.D., Kunt T., Pfützner A., Goitom K., Pohlmann T., Schneider S., Johansson B.L., Wahren J., Löbig M., Engelbach M., Beyer J., Vague P.: Effects of proinsulin C-peptide on nitric oxide, microvascular blood flow and erythrocyte Na<sup>+</sup>K<sup>+</sup>-ATPase activity in diabetes mellitus type I. *Clin. Sci.*, 2000; 98: 283–290
- [17] Forst T., Kunt T.: Effects of C-peptide on microvascular blood flow and blood rheology. *Exp. Diabetes Res.*, 2004; 5: 51–64
- [18] Galuska D., Pirkmajer S., Barres R., Ekberg K., Wahren J., Chibalin A.V.: 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*, 2011; 6: e28294
- [19] Grunberger G., Qiang X., Li Z., Mathews S.T., Sbrissa D., Shisheva A., Sima A.A.: Molecular basis for the insulinomimetic effects of C-peptide. *Diabetologia*, 2001; 44: 1247–1257
- [20] Hach T., Forst T., Kunt T., Ekberg K., Pfützner A., Wahren J.: C-peptide and its C-terminal fragments improve erythrocyte deformability in type 1 diabetes patients. *Exp. Diabetes Res.*, 2008; 2008: 730594
- [21] Hansen A., Johansson B.L., Wahren J., von Bibra H.: C-peptide exerts beneficial effects on myocardial blood flow and function in patients with type 1 diabetes. *Diabetes*, 2002; 51: 3077–3082
- [22] Henriksson M., Johansson J., Moede T., Leibiger I., Shafqat J., Berggren P.O., Jörnvall H.: Proinsulin C-peptide and insulin: limited pattern similarities of interest in inter-peptide interactions but no C-peptide effect on insulin and IGF-1 receptor signaling. *Cell. Mol. Life Sci.*, 2006; 63: 3055–3060
- [23] Hills C.E., Brunskill N.J.: Intracellular signalling by C-peptide. *Exp. Diabetes Res.*, 2008; 2008: 635158
- [24] Hills C.E., Brunskill N.J.: C-Peptide and its intracellular signaling. *Rev. Diabet. Stud.*, 2009; 6: 138–147
- [25] Hyllienmark L., Jonsson B., Ekberg K., Lindström P.: Abnormal cold perception in the lower limbs: a sensitive indicator for detection of polyneuropathy in patients with type 1 diabetes mellitus. *Diabetes Res. Clin. Pract.*, 2009; 85: 298–303
- [26] Ido Y., Vindigni A., Chang K., Stramm L., Chance R., Heath W.F., DiMarchi R.D., Di Cera E., Williamson J.R.: Prevention of vascular and neural dysfunction in diabetic rats by C-peptide. *Science*, 1997; 277: 563–566
- [27] Ikeda K., Kawakami K.: DNA binding through distinct domains of zinc-finger-homeodomain protein AREB6 has different effects on gene transcription. *Eur. J. Biochem.*, 1995; 233: 73–82
- [28] Johansson B.L., Borg K., Fernqvist-Forbes E., Kernell A., Odergren T., Wahren J.: Beneficial effects of C-peptide on incipient nephropathy and neuropathy in patients with type I diabetes mellitus. *Diabet. Med.*, 2000; 17: 181–189
- [29] Johansson J., Ekberg K., Shafqat J., Henriksson M., Chibalin A., Wahren J., Jörnvall H.: Molecular effects of proinsulin C-peptide. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 2002; 295: 1035–1040
- [30] Jörnvall H., Lindahl E., Astorga-Wells J., Lind J., Holmlund A., Melles E., Alvelius G., Nerelius C., Mäler L., Johansson J.F.: Oligomerization and insulin interactions of proinsulin C-peptide: threefold relationships to properties of insulin. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 2010; 391: 1561–1566
- [31] Kamikawa A., Ishii T., Shimada K., Makondo K., Inanami O., Sakane N., Yoshida T., Saito M., Kimura K.: Proinsulin C-peptide abrogates type-1 diabetes-induced increase of renal endothelial nitric oxide synthase in rats. *Diabetes Metab. Res. Rev.*, 2008; 24: 331–338
- [32] Kitamura T., Kimura K., Makondo K., Furuya D.T., Suzuki M., Yoshida T., Saito M.: 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*, 2003; 46: 1698–1705
- [33] Kitazawa M., Shibata Y., Hashimoto S., Ohizumi Y., Yamakuni T.: Proinsulin C-peptide stimulates a PKC/IκB/NF-κB signaling pathway to activate COX-2 gene transcription in Swiss 3T3 fibroblasts. *J. Biochem.*, 2006; 139: 1083–1088
- [34] Kowluru R.A., Jirousek M.R., Stramm L., Farid N., Engerman R.L., Kern T.S.: Abnormalities of retinal metabolism in diabetes or experimental galactosemia: V. Relationship between protein kinase C and ATPases. *Diabetes*, 1998; 47: 464–469
- [35] Li L., Oshida Y., Kusunoki M., Yamanouchi K., Johansson B.L., Wahren J., Sato Y.: Rat C peptide I and II stimulate glucose utilization in STZ-induced diabetic rats. *Diabetologia*, 1999; 42: 958–964
- [36] Li Z.G., Sima A.A.: C-peptide and central nervous system complications in diabetes. *Exp. Diabetes Res.*, 2004; 5: 79–90
- [37] Li Z.G., Zhang W., Sima A.A.: C-peptide enhances insulin-mediated cell growth and protection against high glucose-induced apoptosis in SH-SY5Y cells. *Diabetes Metab. Res. Rev.*, 2003; 19: 375–385
- [38] Lindahl E., Nordquist L., Müller P., El Agha E., Friederich M., Dahlman-Wright K., Palm F., Jörnvall H.: Early transcriptional regulation by C-peptide in freshly isolated rat proximal tubular cells. *Diabetes Metab. Res. Rev.*, 2011 (w druku)
- [39] Lindahl E., Nyman U., Melles E., Sigmundsson K., Stahlberg M., Wahren J., Obrink B., Shafqat J., Joseph B., Jörnvall H.: Cellular internalization of proinsulin C-peptide. *Cell. Mol. Life Sci.*, 2007; 64: 479–486
- [40] Lindahl E., Nyman U., Zaman F., Palmberg C., Cascante A., Shafqat J., Takigawa M., Sävendahl L., Jörnvall H., Joseph B.: Proinsulin C-peptide regulates ribosomal RNA expression. *J. Biol. Chem.*, 2010; 285: 3462–3469
- [41] Luppi P., Cifarelli V., Tse H., Piganelli J., Trucco M.: Human C-peptide antagonizes high glucose-induced endothelial dysfunction through the nuclear factor-κB pathway. *Diabetologia*, 2008; 51: 1534–1543
- [42] Luppi P., Geng X., Cifarelli V., Drain P., Trucco M.: C-peptide is internalized in human endothelial and vascular smooth muscle cells via early endosomes. *Diabetologia*, 2009; 52: 2218–2228
- [43] Luzi L., Zerbini G., Caumo A.: C-peptide: a redundant relative of insulin? *Diabetologia*, 2007; 50: 500–502
- [44] Maciejewska-Jeske M., Szczęśna A., Męczekalski B.: C-peptyd i jego znaczenie w fizjologii oraz wybranych endokrynopatiach. *Pol. Merkur. Lekarski*, 2011; 31: 75–79
- [45] Mares-Guia T.R., Maigret B., Martins N.F., Maia A.L., Vilela L., Ramos C.H., Neto L.J., Juliano M.A., dos Mares-Guia M.L., Santoro M.M.: Molecular dynamics and circular dichroism studies of human and rat C-peptides. *J. Mol. Graph. Model.*, 2006; 25: 532–542
- [46] Marx N., Walcher D., Raichle C., Aleksic M., Bach H., Grüb M., Hombach V., Libby P., Zieske A., Homma S., Strong J.: C-peptide colocalizes with macrophages in early arteriosclerotic lesions of diabetic subjects and induces monocyte chemotaxis *in vitro*. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.*, 2004; 24: 540–545
- [47] Merry T.L., Lynch G.S., McConell G.K.: Downstream mechanisms of nitric oxide-mediated skeletal muscle glucose uptake during contraction. *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.*, 2010; 299: R1656–R1665

- [48] Middleton J.P., Khan W.A., Collinsworth G., Hannun Y.A., Medford R.M.: Heterogeneity of protein kinase C-mediated rapid regulation of Na/K-ATPase in kidney epithelial cells. *J. Biol. Chem.*, 1993; 268: 15958–15964
- [49] Mughal R.S., Scragg J.L., Lister P., Warburton P., Riches K., O'Regan D.J., Ball S.G., Turner N.A., Porter K.E.: Cellular mechanisms by which proinsulin C-peptide prevents insulin-induced neointima formation in human saphenous vein. *Diabetologia*, 2010; 53: 1761–1771
- [50] Nerelius C., Alvelius G., Jörnvall H.: N-terminal segment of proinsulin C-peptide active in insulin interaction/desaggregation. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 2010; 403: 462–467
- [51] Nordquist L., Brown R., Fasching A., Persson P., Palm F.: Proinsulin C-peptide reduces diabetes-induced glomerular hyperfiltration via efferent arteriole dilation and inhibition of tubular sodium reabsorption. *Am. J. Physiol. Renal Physiol.*, 2009; 297: F1265–F1272
- [52] Nordquist L., Lai E.Y., Sjöquist M., Patzak A., Persson A.E.: Proinsulin C-peptide constricts glomerular afferent arterioles in diabetic mice. A potential renoprotective mechanism. *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.*, 2008; 294: R836–R841
- [53] Nordquist L., Shimada K., Ishii T., Furuya D.T., Kamikawa A., Kimura K.: Proinsulin C-peptide prevents type-1 diabetes-induced decrease of renal Na<sup>+</sup>-K<sup>+</sup>-ATPase alpha1-subunit in rats. *Diabetes Metab. Res. Rev.*, 2010; 26: 193–199
- [54] Ohtomo Y., Aperia A., Sahlgren B., Johansson B.L., Wahren J.: C-peptide stimulates rat renal tubular Na<sup>+</sup>, K<sup>(+)</sup>-ATPase activity in synergism with neuropeptide Y. *Diabetologia*, 1996; 39: 199–205
- [55] Ohtomo Y., Bergman T., Johansson B.-L., Jörnvall H., Wahren J.: Differential effects of proinsulin C-peptide fragments on Na<sup>+</sup>,K<sup>+</sup>-ATPase activity of renal tubule segments. *Diabetologia*, 1998; 41: 287–291
- [56] O'Neill L.A., Kaltschmidt C.: NF-κB: a crucial transcription factor for glial and neuronal cell function. *Trends Neurosci.*, 1997; 20: 252–258
- [57] Pramanik A., Ekberg K., Zhong Z., Shafiqat J., Henriksson M., Jansson O., Tibell A., Tally M., Wahren J., Jörnvall H., Rigler R., Johansson J.: C-peptide binding to human cell membranes: importance of Glu27. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 2001; 284: 94–98
- [58] Raccach D., Lamotte-Jannot M.F., Issautier T., Vague P.: Effect of experimental diabetes on Na/K-ATPase activity in red blood cells, peripheral nerve and kidney. *Diabetes Metab.*, 1994; 20: 271–274
- [59] Rebsomen L., Khammar A., Raccach D., Tsimaratos M.: C-peptide effects on renal physiology and diabetes. *Exp. Diabetes Res.*, 2008; 281536
- [60] Rigler R., Pramanik A., Jonasson P., Kratz G., Jansson O.T., Nygren P., Ståhl S., Ekberg K., Johansson B., Uhlén S., Uhlén M., Jörnvall H., Wahren J.: Specific binding of proinsulin C-peptide to human cell membranes. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1999; 96: 13318–13323
- [61] Ritz E., Tarnig D.C.: Renal disease in type 2 diabetes. *Nephrol. Dial. Transplant.*, 2001; 16(Suppl.5): 11–18
- [62] Sato Y., Oshida Y., Han Y.Q., Morishita Y., Li L., Ekberg K., Jörnvall H., Wahren J.: C-peptide fragments stimulate glucose utilization in diabetic rats. *Cell. Mol. Life Sci.*, 2004; 61: 727–732
- [63] Shafiqat J., Melles E., Sigmundsson K., Johansson B.L., Ekberg K., Alvelius G., Henriksson M., Johansson J., Wahren J., Jörnvall H.: Proinsulin C-peptide elicits disaggregation of insulin resulting in enhanced physiological insulin effects. *Cell. Mol. Life Sci.*, 2006; 63: 1805–1811
- [64] Shashkin P.N., Jiao Y., Westerblad H., Katz A.: C-peptide does not alter carbohydrate metabolism in isolated mouse muscle. *Am. J. Physiol.*, 1997; 272: E245–E247
- [65] Shaw J.E., Zimmet P.Z., Gries F.A., Ziegler D.: Epidemiology of diabetic neuropathy. *W: Text book of Diabetic Neuropathy*, red.: F.A. Gries, N.E. Cameron, P. Low, D. Ziegler. Thieme, Stuttgart, NY, USA 2003, 64–82
- [66] Sima A.A., Li Z.G.: The effect of C-peptide on cognitive dysfunction and hippocampal apoptosis in type 1 diabetic rats. *Diabetes*, 2005; 54: 1497–1505
- [67] Sima A.A., Zhang W., Grunberger G.: Type 1 diabetic neuropathy and C-peptide. *Exp. Diabetes Res.*, 2004; 5: 65–77
- [68] Sima A.A., Zhang W., Kreipke C.W., Rafols J.A., Hoffman W.H.: Inflammation in diabetic encephalopathy is prevented by C-peptide. *Rev. Diabet. Stud.*, 2009; 6: 37–42
- [69] Sima A.A., Zhang W., Sugimoto K., Henry D., Li Z., Wahren J., Grunberger G.: C-peptide prevents and improves chronic type I diabetic polyneuropathy in the BB/Wor rat. *Diabetologia*, 2001; 44: 889–897
- [70] Steiner D.F.: The proinsulin C-peptide – a multirole model. *Exp. Diabetes Res.*, 2004; 5: 7–14
- [71] Stevens M.J., Zhang W., Li F., Sima A.A.: C-peptide corrects endoneurial blood flow but not oxidative stress in type 1 BB/Wor rats. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.*, 2004; 287: E497–E505
- [72] Sugimoto K., Murakawa Y., Sima A.A.: Diabetic neuropathy – a continuing enigma. *Diabetes Metab. Res. Rev.*, 2000; 16: 408–433
- [73] Thomas P.K.: Diabetic neuropathy: mechanisms and future treatment options. *J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry*, 1999; 67: 277–279
- [74] Tsimaratos M., Coste T.C., Djemli-Shipkolye A., Daniel L., Shipkolye F., Vague P., Raccach D.: Evidence of time-dependent changes in renal medullary Na,K-ATPase activity and expression in diabetic rats. *Cell. Mol. Biol.*, 2001; 47: 239–245
- [75] Tsimaratos M., Roger F., Chabardes D., Mordasini D., Hasler U., Doucet A., Martin P.Y., Féraillie E.: C-peptide stimulates Na<sup>+</sup>,K<sup>+</sup>-ATPase activity via PKC alpha in rat medullary thick ascending limb. *Diabetologia*, 2003; 46: 124–131
- [76] UniProtKB, Protein Knowledgebase <http://www.uniprot.org/uniprot/?query=insulin&sort=score> (20.10.2011)
- [77] Wahren J., Ekberg K., Johansson J., Henriksson M., Pramanik A., Johansson B.L., Rigler R., Jörnvall H.: Role of C-peptide in human physiology. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.*, 2000; 278: E759–E768
- [78] Wahren J., Ekberg K., Jörnvall H.: C-peptide is a bioactive peptide. *Diabetologia*, 2007; 50: 503–509
- [79] Walcher D., Aleksic M., Jerg V., Hombach V., Zieske A., Homma S., Strong J., Marx N.: C-peptide induces chemotaxis of human CD4-positive cells: involvement of pertussis toxin-sensitive G-proteins and phosphoinositide 3-kinase. *Diabetes*, 2004; 53: 1664–1670
- [80] Walcher D., Babiak C., Poletek P., Rosenkranz S., Bach H., Betz S., Durst R., Grüb M., Hombach V., Strong J., Marx N.: C-Peptide induces vascular smooth muscle cell proliferation: involvement of SRC-kinase, phosphatidylinositol 3-kinase, and extracellular signal-regulated kinase 1/2. *Circ. Res.*, 2006; 99: 1181–1187
- [81] Walenciak Ł., Fendler W., Młynarski W.: Proinsulinowy peptyd C – bioaktywny peptyd z wielkim potencjałem. *Endokrynol. Diabetol. Chor. Przemiany Materii Wieku Rozw.*, 2007; 13: 95–98
- [82] Wallerath T., Kunt T., Forst T., Closs E.L., Lehmann R., Flohr T., Gabriel M., Schäfer D., Göpfert A., Pfütznern A., Beyer J., Förstermann U.: Stimulation of endothelial nitric oxide synthase by proinsulin C-peptide. *Nitric Oxide*, 2003; 9: 95–102
- [83] Watanabe Y., Kawakami K., Hirayama Y., Nagano K.: Transcription factors positively and negatively regulating the Na,K-ATPase α1 subunit gene. *J. Biochem. (Tokyo)*, 1993; 114: 849–855
- [84] Wilhelm B., Kann P., Pfütznern A.: Influence of C-peptide on glucose utilisation. *Exp. Diabetes Res.*, 2008; 2008: 769483
- [85] Zhong A., Davidescu A., Ehrén I., Ekberg K., Jörnvall H., Wahren J., Chibalin A.V.: C-peptide stimulates ERK1/2 and JNK MAP kinases via activation of protein kinase C in human renal tubular cells. *Diabetologia*, 2005; 48: 187–197
- [86] Zhong Z., Kotova O., Davidescu A., Ehrén I., Ekberg K., Jörnvall H., Wahren J., Chibalin A.V.: C-peptide stimulates Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>-ATPase via activation of ERK1/2 MAP kinases in human renal tubular cells. *Cell. Mol. Life Sci.*, 2004; 61: 2782–2790
- [87] Ziegler D.: Treatment of diabetic polyneuropathy: Update 2006. *Ann. NY Acad. Sci.*, 2006; 1084: 250–266
- [88] Zierath J.R., Handberg A., Tally M., Wallberg-Henriksson H.: C-peptide stimulates glucose transport in isolated human skeletal muscle independent of insulin receptor and tyrosine kinase activation. *Diabetologia*, 1996; 39: 306–313

Autorzy deklarują brak potencjalnych konfliktów interesów.