

І.В. Кізуб, О.О. Павлова, А.І. Соловійов

Сучасні уявлення про роль протеїнкінази С у регуляції тонузу гладеньких м'язів стінки кровоносних судин

Протеинкиназа С является важным регуляторным ферментом и принимает активное участие в регуляции тонуса кровеносных сосудов. Она задействована как в поддержании сократительной активности сосудистых гладкомышечных клеток (ГМК) в физиологических условиях, так и в формировании их гиперреактивности при различных видах патологии. Миогенные и эндотелийзависимые пути регуляции сосудистого тонуса, опосредуемые протеинкиназой С, включают множество клеточных механизмов. Наиболее существенными из них являются повышение чувствительности сократительного аппарата ГМК к ионам кальция, регуляция ионной проницаемости плазмолеммы и пролиферативные изменения в ГМК. В эндотелии механизмы, связанные с протеинкиназой С, затрагивают регуляцию формирования и проведения как гуморальных, так и электрических сигналов к ГМК, что имеет большое значение в формировании патологического вазоспазма.

ВСТУП

Нині велика увага дослідників привертається до вивчення механізмів регуляції судинного тонузу за участю шляхів, які прямо не пов'язані зі змінами концентрації іонів кальцію в міоплазмі, та які, однак, відіграють величезну роль у формуванні судинного тонузу як за фізіологічних, так і за патологічних умов. З'ясовано, що однією з ключових ланок у цих механізмах є регуляторний фермент протеїнкіназа С, що має велику кількість білків-мішеней у судинних гладеньком'язових клітинах (ГМК), регулюючи чутливість їх скоротливих елементів до кальцію, іонний обмін через сарколему, а також впливаючи на тонуз ГМК через зміни фізіологічної активності ендотеліальних клітин. Слід зазначити, що цей надзвичайно широкий спектр регуляторної дії протеїнкінази С на тонуз судинної стінки повною мірою проявляється за умов розвитку гіпертензивних

станів різного генезу, де вона залучена до створення гіпертонузу ГМК. Цей факт вимагає формування чітких уявлень про роль протеїнкінази С у регуляції судинного тонузу і дослідження цього питання залишається актуальним як для фізіологів і патофізіологів, так і для практичної медицини, оскільки дає можливість розробки принципово нових шляхів фармакологічної корекції гіпертензивних станів.

Підтипи та регуляція активності протеїнкінази С у судинній стінці

Протеїнкіназа С є регуляторною серин/треонінкіназою в клітинах багатьох тканин хребетних, де має величезну кількість білків-мішеней. Її внутрішньоклітинним активатором є вторинний посередник діацилгліцерол (ДАГ) як при наявності іонів кальцію у міоплазмі, так і за його відсутності [69]. В свою чергу, ДАГ утворюється при гідролізі фосфатидилінозитол-4,5-біфосфату (ФІ) фосфоінозитилспецифічною

© І.В. Кізуб, О.О. Павлова, А.І. Соловійов

фосфоліпазою С, деградацією фосфатидилхоліну під дією цієї фосфоліпази або під сумісною дією фосфоліпази D і фосфатидилфосфогідролази [26]. У судинних ГМК агоністстимульоване накопичення ДАГ є двофазним і складається з короткочасного збільшення концентрації внаслідок гідролізу ФІ та наступної стійкої фази накопичення ДАГ від деградації фосфатидилхоліну [26]. У цитозолі протеїнкіназа С знаходиться у неактивній конформації, яка підтримується взаємодією її активного сайту з доменом псевдосубстрату. ДАГ стимулює її транслокацію до плазматичної мембрани, в процесі чого домен псевдосубстрату вивільнюється, а протеїнкіназа С приймає активну, відкриту конформацію [47]. У ГМК вона розподілена головним чином у міоплазмі, а при активації та трансформації кіназа мігрує до внутрішньої поверхні клітинної мембрани [26].

Активація протеїнкінази С у різних патологічних умовах може відбуватися за участю різних механізмів, які у розвитку генетично детермінованої артеріальної гіпертензії досі остаточно не з'ясовані. З одного боку, це може бути наслідком збільшення активності фосфоліпази С із наступним гідролізом ФІ та збільшення утворення ДАГ, прямого активатора протеїнкінази С [65]. З іншого боку, за даних умов її активатором може бути білок Ras, який ініціює активацію каскаду мітогенактивованих кіназ [29, 41]. Цей каскад (ланцюги Raf–MEK–Erk і RAK–MEKK–Jnk) запускає фосфорилування ядерних транскрипційних факторів, які можуть бути чинниками експресії матричного синтезу протеїнкінази С [63, 64], а також може бути залучений до розвитку кальційнезалежного скорочення ГМК за її ж участю [29].

До збільшення активності протеїнкінази С у судинних ГМК за умов розвитку гіпоксичної легеневої вазоконстрикції можуть бути залучені реактивні види кисню (O_2^- , H_2O_2 , OH^-), які утворюється під дією гіпоксії на електронно-транспортному лан-

цюгу мітохондрій [36, 51, 68, 71] і здатні змінювати скоротливі властивості судинних ГМК [28], впливаючи на активність багатьох регуляторних ферментів [68]. Зокрема, O_2^- може активувати перетворення 1,3-дифосфогліцерату на метилглюксал і ДАГ [36]. Збільшення активності протеїнкінази С за умов гіпоксії може бути також зумовлене стимуляцією фосфоліпази С та посиленням утворення ДАГ за участю реактивних кисневих радикалів [69].

Протеїнкіназа С складає родину із 13 ізоформ, що відрізняються за своєю структурою, функціями та умовами активації. Її ізоформи мають значну гомологію, але неоднакові за своїми амінокислотними послідовностями та по-різному представлені у тканинах. Родину протеїнкіназ С поділяють на три групи [12]. Першу групу складають ізоформи, що узагальнені під назвою умовна або класична протеїнкіназа С (підтипи: α , βI , βII та γ). Усі її підтипи активуються іонами кальцію, фосфатидилсерином і ДАГ. Другу групу складають її споріднені форми, узагальнені під назвою нова протеїнкіназа С (підтипи: ϵ , δ , ζ , η). Ці підтипи кінази чутливі до фосфатидилсерину та ДАГ і можуть активуватися за відсутності іонів кальцію. Останню групу складає атипова протеїнкіназа С, підтипи якої (ξ , ι , μ , ν , θ) є ДАГ- і кальційнезалежними, але потребують для своєї активації фосфатидилсерин. Іноді підтип μ виділяють в окремий під назвою протеїнкіназа D на основі її низької спорідненості в будові з іншими ізоформами [14]. Для ГМК кровоносних судин найбільш характерними є підтипи С- α , - βI , - βII , - ϵ , - δ , - ι та - μ [14, 33, 48].

Однією із властивостей протеїнкінази С є те, що вона бере участь у формуванні мультипротеїнових комплексів, які задіяні у внутрішньоклітинній сигналізації та регулюють клітинні відповіді. Сигнальні модулі, що утворені з декількох ферментів, збираються у межах цих комплексів і прямо

керують субклітинними функціями [66, 67]. Прикладом такого функціонального комплексу є формування модуля з підтипом ϵ та Src-кінази, що взаємодіють через SH_2 - та SH_3 -домени Src-кінази та домен ізоформи ϵ , який має більшу за каталітичний домен спорідненість до субстрату [67]. За умов такої взаємодії активація протеїнкінази С призводить до збільшення спорідненості тирозинкіназ до субстрату, зокрема при захисті проти ішемічних пошкоджень міокарда [66].

Кальційсенситизувальний ефект протеїнкінази С у ГМК кровеносних судин

Довгий час вважалося, що головною умовою для розвитку скорочення як судинних, так і всіх інших ГМК, є збільшення внутрішньоклітинної концентрації іонів кальцію в міоплазмі ($[\text{Ca}^{2+}]_i$). За умов розвитку агоністіндукованного скорочення судинних ГМК спостерігається лише початкове короточасне збільшення $[\text{Ca}^{2+}]_i$, яке з часом зменшується до рівня, недостатнього для підтримання тонічної фази скорочення ГМК [30]. Концентрація вільного кальцію в цитозолі та рівень фосфорилування легких ланцюгів міозину в судинних ГМК підвищуються впродовж стійкої (тонічної) фази скорочення, після чого, однак, знижуються, майже до базального рівня. Таким чином, хоча скорочення судинних ГМК ініціюється кальцієм, його концентрація не пропорційна амплітуді фазного скорочення та наступного тонічного скорочення, оскільки воно може модифікуватися багатьма факторами, що регулюють фосфорилування легких ланцюгів міозину. Це було виявлено з вимірювання вмісту кальцію, який надходить до ГМК, фосфорилування легких ланцюгів міозину та змін тонусу гладеньких м'язів на інтактних і скінованих судинних препаратах [30]. Це явище опосередковується змінами так званої чутливості (спорідненості) скоротливих та/або регуляторних білків скоротливого

апарату до іонів кальцію, або кальцієвою чутливістю міофіламентів. Так, наприклад, під дією деяких вазоконстрикторних агентів спостерігається скорочення судинних ГМК при постійному рівні фосфорилування легких ланцюгів міозину та $[\text{Ca}^{2+}]_i$ [49]. Це явище було названо кальцієвою сенситизацією скоротливого апарату ГМК, в іншому разі можуть спостерігатися протилежні зміни у кальцієвій чутливості, тобто кальцієва десенситизація [37, 58].

У літературі наголошується провідна роль протеїнкінази С у механізмах збільшення кальцієвої чутливості скоротливого апарату судинних ГМК. Передумовами стали повідомлення про те, що у скінованих (надпроникних внаслідок преципітації холестеролу плазмолеми) α -токсинам або сапоніном судинних ГМК селективні активатори протеїнкінази С, форболові ефіри, викликали збільшення кальцієвої чутливості скоротливого апарату, що було встановлено при вимірюванні напруження судинної стінки, $[\text{Ca}^{2+}]_i$ та рівня фосфорилування легких ланцюгів міозину [20].

Подібна сенситизація скоротливих білків судинних ГМК до іонів кальцію спостерігається під дією активаторів протеїнкінази С форбол-12-міристан-13-ацетату та форбол-12,13-дибутирату навіть за умов, коли $[\text{Ca}^{2+}]_i$ недостатньо для розвитку скорочення ГМК [27]. Також її активатор 12-деоксифорбол-13-ізобутират викликає дозозалежне скорочення ГМК грудного відділу аорти щурів у безкальцієвому середовищі, і яке при наявності іонів кальцію є нечутливим до блокаторів кальмодуліну W-7 і трифлуолеразину або блокатора кінази легких ланцюгів міозину ML-9 [45]. Активатори протеїнкінази С індолактам V та 1,2-діоктаноїлгліцерол також викликають збільшення кальцієвої чутливості скоротливого апарату ГМК, що спостерігається на скінованих α -токсинам препаратах мозкових та очеревинних артерій за відсутності будь-яких змін $[\text{Ca}^{2+}]_i$ [20, 27].

Разом з тим дослідження на інтактних ізольованих препаратах мозкових артерій та аорти тхора показали, що викликана індолактамом V та 1,2-діоктаноїлгліцеролом вазоконстрикція пов'язана з активацією різних ізоформ протеїнкінази C, які можуть викликати як кальційзалежне так і незалежне скорочення судинних ГМК [17]. При цьому також було відмічено, що констрикція інтактних препаратів мозкових артерій під дією індолактаму V та 1,2-діоктаноїлгліцеролу не пов'язана зі збільшенням $[Ca^{2+}]_i$ [20]. Як було показано іншими дослідниками, блокатори протеїнкінази C H-7 і кальфостин C викликають повне пригнічення індукованої фенілефрином констрикції резистивних мезентеріальних артерій щурів за відсутності змін $[Ca^{2+}]_i$ [69].

1. *Опосередкована протеїнкіназою C кальцієва сенситизація скоротливого апарату гладеньком'язових клітинах кровеносних судин за фізіологічних умов.* Механізм підвищення кальцієвої чутливості скоротливого апарату ГМК, опосередкований протеїнкіназою C, за нормальних умов залучений до міогенних відповідей ГМК [14] так само, як і до деяких агоністіндукованих відповідей, зокрема вазоконстрикції, що викликана активацією α_1 -адренорецепторів у багатьох судинних ділянках, включаючи мозковий, очеревинний та скелетний [41, 48, 69]. Слід зазначити, що до розвитку викликаного агоністами скорочення ГМК залучені лише окремі ізоформи протеїнкінази C, зокрема, відомо, що її підтип δ не бере участі в цьому процесі [14]. Більшість дослідників, як ключовий посередник міогенних відповідей ГМК, виводять на перше місце активацію підтипу α протеїнкінази C [14, 33, 41], зокрема за умов розвитку агоністіндукованої вазоконстрикції [25]. Також внаслідок активації α_1 -адренорецепторів ДАГ-залежні ізоформи стимулюють мітогенактивовані протеїнкінази родини Erk1/Erk2, мішенню яких є скоротливий апарат ГМК [29].

Показано, що опосередковані протеїнкіназою C шляхи кальцієвої сенситизації скоротливих білків можуть бути залучені у відповіді ГМК на збільшення внутрішньосудинного тиску в мікроциркуляторному руслі. Про це свідчить пригнічення міогенної реактивності дрібних артеріол під дією блокаторів протеїнкінази C і підвищення міогенних відповідей великих артеріол під дією її активатора 1-індолактаму за відсутності змін $[Ca^{2+}]_i$. У працях інших дослідників показано також роль опосередкованої протеїнкіназою C кальцієвої сенситизації скоротливого апарату ГМК великих артерій і вен у активованих розтягненням судинних відповідях [2]. Дослідження, проведені на аорті та резистивних коронарних судинах тхорів показують, що збільшення судинного тонуусу внаслідок підвищення внутрішньосудинного тиску зумовлено сенситизацією міофіламентів до іонів кальцію за участю кальційнезалежної ізоформи ϵ протеїнкінази C лише на початковому етапі скорочення, яке надалі залежить від $[Ca^{2+}]_i$ та контролюється ізоформою α [14].

2. *Опосередкована протеїнкіназою C кальцієва сенситизація скоротливого апарату ГМК кровеносних судин за умов розвитку патологічних станів.* Разом із регуляцією тонуусу судинних ГМК за фізіологічних умов, протеїнкіназа C залучена до формування патологічного вазоспазму. Як свідчать дані літератури, її роль є значною в зростанні судинного тонуусу за умов розвитку патологічних станів серцево-судинної системи. У багатьох дослідженнях на скинованих β -есцином препаратах аорти щурів зі спонтанною гіпертензією встановлено, що опосередкована протеїнкіназою C кальцієва сенситизація скоротливого апарату ГМК, може бути одним з головних чинників формування артеріального гіпертонуусу за умов розвитку генетично детермінованої гіпертензії [32, 57]. Ці дослідження показали, що на відміну від здорових тварин, чутливість до іонів кальцію в артеріальних ГМК у

таких щурів значно підвищена, однак повністю нормалізується після селективної блокади протеїнкінази С стауроспорином або челеритрином [1, 32].

Головну роль протеїнкінази С у збільшенні кальцієвої чутливості скоротливого апарату артеріальних ГМК продемонстровано також для механізмів розвитку артеріальної гіпертензії, яка викликана дією іонізуючого опромінення [32, 60]. У досліджах на препаратах аорти γ -опромінених щурів із одночасним вимірюванням $[Ca^{2+}]_i$ та сили скорочення ГМК, а також реєстрації кальційіндукованого скорочення скінованих препаратів, встановлено, що чутливість скоротливого апарату артеріальних ГМК до іонів кальцію значно збільшена. При цьому було показано, що селективна блокада протеїнкінази С повністю усуває кальцій-сенситизувальний ефект дії іонізуючого опромінення на міофіламенти ГМК [32]. З іншого боку, її активатор форбол-12,13-дибутират значно підвищує кальцієву чутливість скоротливого апарату ГМК аорти здорових тварин, не впливаючи на його чутливість до іонів кальцію опромінених щурів, що свідчить про залучення протеїнкінази С саме до патологічної кальцієвої сенситизації [60].

Опосередкований протеїнкіназою С кальційсенситизувальний ефект на скоротливі білки ГМК легеневих артерій щурів встановлено також для механізмів розвитку гіпоксичної легеневої вазоконстрикції [32, 56]. Як відомо, на відміну від артерій системного кола кровообігу, гіпоксія викликає звуження артерій легеневого кола [56]. У досліджах на скінованих гладеньком'язових препаратах було показано, що одним з механізмів розвитку вазоспазму легеневих артерій за гіпоксичних умов є збільшення чутливості скоротливого апарату їх ГМК до іонів кальцію, тоді як в ГМК аорти під дією гіпоксії спостерігаються протилежні зміни [1]. При цьому селективна блокада протеїнкінази С повністю усу-

ває збільшення кальцієвої чутливості скоротливого апарату ГМК легеневих артерій, жодним чином не впливаючи на реакції аорти, що може бути свідченням залучення її до формування протилежних реакцій судин великого та малого кола у відповідь на гіпоксію [1].

У досліджах на скінованих β -есцином ізольованих судинних препаратах мезентеріальної артерії хом'яків з кардіоміопатією із застосуванням активатора протеїнкінази С форбол-12,13-дибутирату було показано залежне від протеїнкінази С збільшення чутливості скоротливого апарату ГМК до кальцію [52]. Як свідчать дані цих досліджень, кальцієва чутливість скоротливого апарату ГМК судин у тварин з кардіоміопатією значно підвищена, при цьому активатор викликає кальцієву сенситизацію в судинах лише хворих тварин. Протеїнкіназа С також залучена до збільшення тонуусу судин, що лежить в основі викликаних діабетом змін гемодинаміки [23]. Головну роль у підвищенні судинного тонуусу за умов розвитку діабету надають збільшенню активності її ізоформи β_{11} [23].

3. *Механізми опосередкованого протеїнкіназою С збільшення чутливості скоротливого апарату судинних ГМК до іонів кальцію.* Нині існує декілька механізмів, за якими протеїнкіназа С може викликати збільшення кальцієвої чутливості скоротливого апарату судинних ГМК. Зокрема, було встановлено, що вона може фосфорилювати легкі ланцюги міозину безпосередньо або впливати на актинміозинову взаємодію без залучення каскаду кальцій-кальмодулінкіназа легких ланцюгів міозину, таким чином призводячи до активування поперечних містків за відсутності збільшення $[Ca^{2+}]_i$ [58]. Відомо також, що протеїнкіназа С здатна фосфорилювати кіназу легких ланцюгів міозину прямо або опосередковано через активацію протеїнкінази А [55].

Іншим запропонованим механізмом кальцієвої сенситизації судинних ГМК,

залежної від протеїнкінази С, є фосфорилування нею актинзв'язувальних білків кальдесмону або кальпоніну, які в нефосфорильованому стані пригнічують актинактивовану Mg^{2+} -АТФазу міозину ГМК [44]. У судинних ГМК кальпонін є одним із субстратів для протеїнкінази С і фосфорилування кальпоніну з її боку може призводити до зникнення його активності через дисоціацію з актином. При цьому вона здійснює фосфорилування за Thr¹⁸⁴, функціонально найбільш важливого для скорочення судинних ГМК сайту кальпоніну – фосфопептидного комплексу T2 [44].

Спостереження на інтактних і скінованих судинних ГМК виявило більш тісну кореляцію між силою скорочення та рівнем фосфорилування легких ланцюгів міозину порівняно з силою скорочення та $[Ca^{2+}]_i$. Показано, що збільшення фосфорилування легких ланцюгів міозину пов'язано зі зменшенням коефіцієнта дефосфорилування, викликаного фосфатазою легких ланцюгів міозину [49, 58]. Найбільш імовірним із шляхів дії протеїнкінази С на збільшення напруження ГМК при незмінному $[Ca^{2+}]_i$ вважається пригнічення фосфатази легких ланцюгів міозину [9, 27]. Шлях сенситизації скоротливого апарату судинних ГМК до іонів кальцію, що опосередкований протеїнкіназою С, залучає пригнічення фосфатази легких ланцюгів міозину за участю протеїнкінази С-потенційованого інгібіторного білка CPI-17 [62]. Він належить до родини споріднених білків (CPI-17, RNI-1, RNI-2, KER1, KER1-2 тощо), яка носить таку саму назву та забезпечує молекулярну взаємодію між деякими протеїнкіназами, зокрема С та Rho-протеїнкінази, залежної від мономерного G-білка RhoA, котра, самостійно та з кіназою С бере участь у процесі пригнічення фосфатази легких ланцюгів міозину [17, 46, 62]. Асоціативна взаємодія із Rho-кіназою у кальційсенситизувальну ефекти на судинні ГМК показана, зокрема для ізоформ ϵ [29] та α , яка

може функціонально взаємодіяти із RhoA [25]. Протеїнкіназа С, так само, як і Rho-кіназа, фосфорилує білок CPI-17 за Thr³⁸. У фосфорильованому стані білок CPI-17 значно підвищує свою здатність зв'язуватись із фосфатазою легких ланцюгів міозину, пригнічуючи її активність внаслідок утворення кальційсенситизувального комплексу з його каталітичною субодиницею PP-1C і міозинзв'язувальною субодиницею фосфатази легких ланцюгів міозину MYPT-1 [9]. Таким чином, протеїнкіназа С може викликати збільшення чутливості скоротливого апарату ГМК аорти до іонів кальцію через опосередковане білком пригнічення фосфатази легких ланцюгів міозину.

Опосередкована протеїнкіназою С регуляція іонної провідності через плазмолему судинних ГМК

Існують дані про те, що в судинних ГМК протеїнкіназа С здатна безпосередньо фосфорилувати білки катіонних каналів плазмолемі, регулюючи їх активність і, таким чином, модулювати скоротливу активність ГМК [54]. Останнім часом стало відомо, що взаємодія потенціалзалежних кальцієвих каналів L-типу та протеїнкінази С відіграє важливу роль у формуванні міогенного тону та реактивності ГМК [54]. Так, зокрема, на ГМК воротної вени шурів показано, що протеїнкіназа С залучена до регуляції потенціалзалежних кальцієвих каналів L-типу, безпосередньо викликаючи їх активацію [15] через фосфорилування α_{1c} -субодиниці [54], призводячи до збільшення тону ГМК. Про це також свідчить той факт, що потенціалзалежний кальцієвий струм у ГМК резистивних коронарних артерій свині ефективно блокується її інгібіторами стауроспорином, челеритрином та бісінодолілмалеїдом [33]. Встановлено також, що активатором кальцієвих каналів у різних типах м'язових клітин, в тому числі і ГМК, є ізоформа β [15].

З іншого боку, існують дані про те, що

протеїнкіназа С зменшує частоту кальцієвих спарків у судинних ГМК, як це було показано на міоцитах мозкових артерій шурів [8]. При цьому встановлено, що її пригнічує активність ріанодинчутливих кальцієвих каналів саркоплазматичного ретикулума ГМК мозкових артерій шурів. Як також було досліджено на ГМК ворітної вени кролів, спонтанні транзйентні вихідні струми, які є результатом активації кальцій-залежних калієвих каналів, пригнічуються опосередкованим протеїнкіназою С вивільненням іонів кальцію із внутрішньоклітинних депо [31].

Регуляція тонуусу судинних гладеньких м'язів може здійснюватися також за участю інактивууючого впливу протеїнкінази С на кальційзалежні калієві канали плазмолемі ГМК [23]. Як показано у дослідях на гладеньких м'язах легеневиx артерій, їх звуження внаслідок інактивациі кальцій-залежних калієвих каналів великої провідності мембрани ГМК, яка опосередкована дією протеїнкінази С [4]. Подібні дані, що показують її інгібіторний вплив на цей тип каналів, отримано на ГМК коронарних артерій свині [38].

Протеїнкіназа С бере безпосередню участь у механізмах вазоконстрикторної дії ангіотензину II на тонус кровоносних судин пригніченням АТФ-чутливих калієвих каналів мембрани ГМК, як це показано на міоцитах очеревинної артерії шурів, і залученою до цього ефекту є ізоформа ε [34]. У дослідженнях на міоцитах вушної артерії кроля встановлено, що ДАГ збільшує провідність неселективних катйонних каналів, яка, з іншого боку, пригнічується активатором протеїнкінази С форбол-12, 13-дибутиратом [3], що свідчить про залучення її до регуляції неселективного катйонного струму в ГМК цих судин.

Протеїнкіназа С також викликає зміни аніонної провідності плазматичної мембрани ендотеліоцитів. Відомо, що вона залучена до регуляції активності хлорних каналів як

у ГМК, так і в ендотеліоцитах [39, 73]. Так, зокрема, відомо, що активація хлорних каналів в ГМК легеневиx артерій собаки може бути наслідком її пригнічення [73]. Відомо, що в ендотеліоцитах ізоформа ε бере участь у регуляції активності хлорних каналів через залучення білка RACK1 [39], який належить до групи так званих рецепторів активованих С-кіназою (RACK), групи білків, пов'язаних із протеїнкіназою С. Ця група опосередковує деякі її внутрішньосигнальні шляхи, селективно щодо її різних ізоформ [50].

Участь протеїнкінази С в ендотеліоопосередкованій регуляції судинного тонуусу

Протеїнкіназа С може також підтримувати шляхи зниження чутливості скоротливих білків до кальцію під дією оксиду азоту II (NO). NO лише транзиторно знижує $[Ca^{2+}]_i$, тоді як дилататорна реакція гладеньких м'язів у відповідь на його дію підтримується значно триваліший час, що прямо вказує на зниження кальцієвої чутливості скоротливого апарату судинних ГМК [37, 58]. Дослідження на скінованих β-есцином і стафілококовим α-токсином судинних сегментах з використанням блокатора фосфатази 1 і 2А мікроцистину-LR та блокатора протеїнкінази С стауроспорину показали, що NO-індуковане зниження чутливості скоротливого апарату судинних ГМК до іонів кальцію пов'язано з активацією фосфатаз і дефосфорилуванням легких ланцюгів міозину [58]. У свою чергу, активація фосфатаз зумовлена гальмуванням за цих умов активності протеїнкінази С внаслідок нітрозилювання під дією NO її SH-групи та наступного окиснення до внутрішньомолекулярних дисульфідів [10]. Відомо, що за нормальних умов активність фосфатаз у судинних ГМК знаходиться під гальмівним контролем з боку протеїнкінази [26].

Існують також дані про те, що пригнічення ендотеліозалежної вазодилатації за умов розвитку індукованої іонізуючим

опроміненням гіпертензії може бути пов'язане зі змінами активності протеїнкінази С в ендотеліоцитах [59]. Також відомо, що ізоформа β_{II} залучена до порушення ендотеліопосередкованої вазодилатації за умов гіперглікемії [5, 7]. З'ясовано, що вивільнення ендотеліального NO може пригнічуватись активатором протеїнкінази С форболмеристатом за допомогою фосфорилування ендотеліальної NO-синтази (eNOS) із наступним зменшенням її каталітичної активності [10, 11]. Деякі автори повідомляють, що пригнічення eNOS та утворення NO корелює з опосередкованим протеїнкіназою С фосфорилуванням Thr⁴⁹⁵ або Thr⁴⁹⁷ кальмодулінзв'язувального домену eNOS [42, 66]. Протеїнкіназа С також здатна пригнічувати транспорт L-аргініну (субстрату для eNOS) до ендотеліоцитів, викликаючи пригнічення утворення NO [72]. Таким чином, збільшення її активності в ендотеліоцитах може пригнічувати eNOS та утворення NO, сприяючи розвитку гіпертензивних станів.

Як відомо, між клітинами стінки кровососних судин існують щільні контакти або нексуси, що формують міоендотеліальні електричні зв'язки, по яким зміни мембранного потенціалу ендотеліоцитів здатні поширюватися на плазматичну мембрану ГМК, викликаючи специфічні клітинні відповіді [19, 22]. Відомо, що протеїнкіназа С може керувати функціонуванням міжклітинних каналів через регуляцію фосфорилування їх складових – конексонів і, таким чином, моделювати тону судинних ГМК [19].

Важливу роль у ендотеліопосередкованій гуморальній регуляції судинного тону відіграє також ендотелін-1, дія якого в ГМК також опосередковується протеїнкіназою С [43]. Зв'язування ET-1 його з рецептором до ендотеліну А, так само як і за умов активації α -адренорецепторів, викликає активацію фосфоліпази С, наступне утворення DAG та активацію протеїнкінази С [43].

Іншим вазоактивним фактором, дія

якого пов'язана з активацією протеїнкінази С є пухлинний фактор некрозу α (ПФН- α), медіатор септичного синдрому та синдрому дихального порушення, який підвищує проникність ендотеліоцитів легеневих судин [18]. У досліджах на ендотелії легеневих артерій корів і морських свинок встановлено, що викликане ПФН- α підвищення тиску в легеневих артеріях і легенева едема опосередковані активацією протеїнкінази С, оскільки усуваються під дією її блокатора кальфостіну [53]. Було також встановлено, що в ендотелії легеневих артерій ПФН- α викликає переміщення лізоформ α та/або β до мембрани [18]. Відомо також, що активація протеїнкінази С викликає підвищення проникності ендотелію легеневих артерій та опосередковує порушення ендотелію у відповідь на дію фактора росту судинного ендотелію, H_2O_2 та тромбіну [70]. В ендотеліоцитах механізм ПФН- α -опосередкованої активації протеїнкінази С включає активацію фосфоліпази С через рецептор ПФН- α p55 з наступним утворенням DAG [18]. Залежні від протеїнкінази С зміни проникності мембрани ендотеліоцитів під дією ПФН- α пов'язані зі змінами цитоскелета через фосфорилування кальдесмону, легких ланцюгів міозину, віментину та мітогенактивованих кіназ, які взаємодіють із актином [18]. Опосередкована протеїнкіназою С гіперпроникність ендотелію також викликана змінами у синтезі NO та може бути наслідком дії фактора росту судинного ендотелію [70] через транскрипцію eNOS за участю ізоформам α/ϵ або активації НАДФ-оксидази й утворення супероксиду [38].

Опосередковані протеїнкіназою С проліферативні зміни в судинних гладеньких м'язах

Окрім механізмів, що забезпечують регуляцію тону судинних ГМК, протеїнкіназа С також залучена у формування гіпертензивних станів внаслідок проліферативних змін у судинній стінці. Зокрема, опосередковані протеїнкіназою С зміни кальцієвої

чутливості скоротливого апарату можуть комбінуватись із проліферативними змінами ГМК у розвитку генетично детермінованої гіпертензії [40]. Одним з таких шляхів може бути зумовлена нею активація Ras-білка, що ініціює каскад реакцій мітогенактивованих кіназ [13]. Ці протеїнкінази, активуючи одна одну, фосфорилують рибосомальні 6S-кінази та ядерні транскрипційні фактори, які регулюють активність генів мітозу [63]. Наслідком цього є проліферація судинних ГМК і зменшення просвіту судин. Іншим подібним механізмом є шлях опосередкованої протеїнкіназою С активації мітогенактивованих кіназ із наступним фосфорилуванням факторів транскрипції, які, в свою чергу, активують процес мітозу через так звані онкогени (*c-fos* і *c-myc*). Реалізація цих генів призводить до бласттрансформації, що викликає проліферацію ГМК стінки кровоносних судин [63]. Відомо також, що внаслідок невстановлених причин, при гіпертензивних станах різного генезу, зокрема за умов гіпоксичної легеневої гіпертензії, збільшується експресія матричного синтезу протеїнкінази С, формуючи позитивний зворотний зв'язок [64].

Таким чином, результати численних досліджень свідчать про те, що роль протеїнкінази С є однією з ключових у регуляції міогенного тонуусу стінки кровоносних судин як за нормальних фізіологічних умов, так і, особливо, за умов розвитку гіпертензивних станів різного генезу. Поряд із іншими шляхами регуляції тонуусу судинних ГМК за участю регуляторних протеїнкіназ, опосередкований протеїнкіназою С шлях альтерації кальцієвої чутливості скоротливого апарату ГМК, а також її вплив на активність іонних каналів сарколеми та ендотелійзалежну регуляцію судинного тонуусу залучені до формування багатьох патологій серцево-судинної системи. Значення протеїнкінази С у розвитку судинних патологій неможливо недооцінити, що є надзвичайно важливим як для

фундаментальної фізіології, так і для розробки нових підходів до фармакологічного усунення гіпертензивних станів. Нині серед фармакологічних засобів лікування артеріальної гіпертензії не існує препаратів, дія яких спрямована на пригнічення протеїнкінази С у судинній стінці. Дослідження в цьому напрямку сприятимуть створенню нових класів фармакологічних засобів, зокрема кальцієвих сенситизаторів, які можуть стати ідеальними кардіотоніками, та кальцієвих десенситизаторів – вазотоніків та антигіпертензивних засобів із направленою дією.

I.V. Kizub, O.O. Pavlova, A.I. Solovyov

MODERN CONCEPTION OF PROTEIN KINASE C ROLE IN THE VASCULAR SMOOTH MUSCLES TONE REGULATION

Protein kinase C is an important regulatory enzyme that plays significant role in the vascular tone regulation. Protein kinase C is involved in the vascular smooth muscle cells (SMC) contractility at physiological conditions and its hyperreactivity at different types of pathology. Myogenic and endothelium-dependent pathways of protein kinase C-mediated vascular tone regulation include a variety of cellular mechanisms. The most important protein kinase C-mediated mechanisms in SMC are the increase of myofilament Ca^{2+} -sensitivity; regulation of plasmolema ion permeability, and proliferative changes in SMC. Protein kinase C-related mechanisms in vascular endotheliocytes include regulation of formation and transduction of humoral and electrical signals to SMC that play an important role in the pathological vasospasm development.

Institute of Pharmacology and Toxicology Academy of Medical Sciences of Ukraine, Kyiv

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Павлова О.О., Сагач В.Ф., Соловйов А.І. Вплив блокади протеїнкінази С на зміни кальцієвої чутливості скоротливого апарату судинних гладеньких м'язів при вазоспастичних станах різного генезу // *Фізіол. журн.* – 2003. – **49**, №6. – С.31–37.
2. Соловьев А.И. Изменения Ca^{2+} -чувствительности сократительных белков гладкомышечных клеток воротной вены крас при растяжении и гипоксии // *Физиол. журн. СССР.* – 1990. – **76**, №8. – С.1048–1054.
3. Albert A.P., Piper A.S., Large W.A. Properties of a constitutively active Ca^{2+} -permeable non-selective cation channel in rabbit ear artery myocytes // *J. Physiol.* – 2003. – **549**. – P.143–156.

4. Barman S.A., Zhu S., White R.E. PKC activates BK channels in rat pulmonary arterial smooth muscle via cGMP-dependent protein kinase // *Amer. J. Physiol. Lung Cell Mol. Physiol.* – 2004. – **286**. – P.L1275–L1281.
5. Beckman J.A., Goldfine A.B., Gordon M.B. et al. Inhibition of protein kinase C prevents impaired endothelium-dependent vasodilation caused by hyperglycaemia in humans // *Circulat. Res.* – 2002. – **90**. – P.107–111.
6. Bohlen H.G. Protein kinase β_{II} in Zucker obese rats compromises oxygen and flow-mediated regulation of nitric oxide formation // *Amer. J. Physiol.* – 2004. – **286**. – P.H492–H497.
7. Bohlen H.G., Nase G.P. Arteriolar nitric oxide concentration is decreased during hyperglycemia-induced β_{II} PKC activation // *Ibid.* – 2001. – **280**. – P.H621–H627.
8. Bonev A.D., Jaggar J.H., Rubart M., Nelson M.T. Activators of protein kinase C decrease Ca^{2+} spark frequency in smooth muscle cells from cerebral arteries // *Ibid.* – 1997. – **273**. – P.C2090–C2095.
9. Bonnevier J., Arner A. Action downstream of cyclic GMP/protein kinase G can reverse protein kinase C-mediated phosphorylation of CPI-17 and Ca^{2+} sensitization in smooth muscle // *J. Biol. Chem.* – 2004. – **279**. – P.28998–289003.
10. Carter R.W., Kanagy N.L. Mechanism of enhanced calcium sensitivity and alpha 2-AR vasoreactivity in chronic NOS inhibition hypertension // *Amer. J. Physiol. Heart Circulat. Physiol.* – 2003. – **284**, №1. – P.H309–H316.
11. Chu S., Bohlen H.G. High concentration of glucose inhibits glomerular endothelial eNOS through a PKC mechanism // *Amer. J. Physiol.* – 2004. – **287**. – P.F384–F392.
12. Dempsey E.C., Newton A.C., Mochley-Rosen D. et al. Protein kinase C isozymes and the regulation of diverse cell responses // *Ibid.* – 2000. – **279**. – P.L429–L438.
13. Denhardt D.T. Signal-transducing protein phosphorylation cascades mediated by Ras/Rho proteins in the mammalian cell: the potential for multiplex signalling // *Biochem. J.* – 1996. – **318**. – P.729–747.
14. Dessy C., Matsuda N., Hulvershorn J. et al. Evidence for involvement of the PKC- δ , isoform in myogenic contractions of the coronary microcirculation // *Amer. J. Physiol.* – 2000. – **279**. – P.H916–H923.
15. Ding Y., Schwartz D., Posner P., Zhong J. Hypotonic swelling stimulates L-type Ca^{2+} channel activity in vascular smooth muscle cells through PKC // *Amer. J. Physiol. Cell Physiol.* – 2004. – **287**, №2. – P.C413–C421.
17. Eto M., Matsuzawa F., Aikawa S., Ohki S. Mechanism for the controlling Ca^{2+} sensitivity of smooth muscle contraction // *J. Muscl. Res. Cell Motil.* – 2005. – **26**, №1. – P.68.
18. Ferro T., Neumann P., Gertzberg N. et al. Protein kinase C- α mediates endothelial barrier dysfunction induced by TNF- α // *Amer. J. Physiol.* – 2000. – **278**. – P.L1107–1117.
19. Figueroa X.F., Isakson B.E., Duling B.R. Connexins: gaps in our knowledge of vascular function // *Physiology*. – 2004. – **19**, №5. – P.277–284.
20. Gokina N.I., Knot H.J., Nelson M.T., Osol G. Increased Ca^{2+} sensitivity as a key mechanism of PKC-induced contraction in pressurized cerebral arteries // *Amer. J. Physiol. Heart Circulat. Physiol.* – 1999. – **277**. – P.H1178–H1188.
22. Griffith T.M. Endothelium-dependent smooth muscle hyperpolarization: do gap junctions provide a unifying hypothesis? // *Brit. J. Pharmacol.* – 2004. – **141**, №6. – P.881–903.
23. Guo M., Wu M.H., Korompai F., Yuan S.Y. Upregulation of PKC genes and isozymes in cardiovascular tissues during early stages of experimental diabetes // *Physiol. Genomics*. – 2003. – **12**. – P.139–146.
24. Hagen B.M., Bayguinov O., Sanders K.M. β -Subunits are required for regulation of coupling between Ca^{2+} transients and Ca^{2+} -activated K^+ (BK) channels by protein kinase C // *Amer. J. Physiol. Cell Physiol.* – 2003. – **285**. – P.1270–1280.
25. Haiyan P., Khalil N.B. Direct association of RhoA with specific domains of PKC- α // *Amer. J. Physiol.* – 2005. – **289**. – P.C982–C993.
26. Harnett K.M., Cao W., Biancani P. Signal-transduction pathways that regulate smooth muscle function I. Signal transduction in phasic (esophageal) and tonic (gastroesophageal sphincter) smooth muscles // *Amer. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol.* – 2005. – **288**. – P.G407–G416.
27. Hill M.A., Davis M.J., Song J., Zou H. Calcium dependence of indolactam-mediated contractions in resistance vessels // *J. Pharmacol. Exp. Ther.* – 1996. – **276**. – P.867–874.
28. Kevil C.G., Okayama N., Alexander J.S. H₂O₂-mediated permeability II: importance of tyrosine phosphatase and kinase activity // *Amer. J. Physiol. Cell Physiol.* – 2001. – **281**. – P.C1940–C1947.
29. Khalil R.A., Morgan K.G. PKC-mediated redistribution of mitogen-activated protein kinase during smooth muscle cell activation // *Amer. J. Physiol.* – 1993. – **265**. – P.C406–C411.
30. Khalil R.A., VanBreemen C. Sustained contraction of vascular smooth muscle: calcium influx or C-kinase activation? // *J. Pharmacol. Exp. Ther.* – 1988. – **244**. – P.537–542.
31. Kitamura K., Xiong Z., Teramoto N., Kuriyama H. Roles of inositol trisphosphate and protein kinase-C in the spontaneous outward current modulated by calcium release in rabbit portal vein // *Pflüg. Arch.* – 1992. – **421**. – P.539–551.
32. Kizub I., Pavlova A., Solovjev A. Protein kinase C modulates myofilaments Ca^{2+} -sensitivity in vascular smooth muscle: possible role in vasospasm development // *J. Muscle Res. and Cell Motil.* – 2005. – **26**, №1. – P.70.
33. Korzick D.H., Laughlin M.H., Bowles D.K. Alterations

- in PKC signaling underlie enhanced myogenic tone in exercise-trained porcine coronary resistance arteries // *J. Appl. Physiol.* – 2004. – **96**. – P.1425–1432.
34. Kubo M., Quayle J.M., Standen N.B. Angiotensin II inhibition of ATP-sensitive K^+ currents in rat arterial smooth muscle cells through protein kinase C // *J. Physiol. (London)* – 1997. – **503**. – P.489–496.
 35. Kunisaki M., Bursell S.E., Clermont A.C. et al. Vitamin E prevents diabetes-induced abnormal retinal blood flow via the diacylglycerol-protein kinase C pathway // *Amer. J. Physiol.* – 1995. – **269**. – P.E239–E246.
 36. Leach R.M., Hill M., Snetkov V.A. et al. Divergent roles of glycolysis and the mitochondrial electron transport chain in hypoxic pulmonary vasoconstriction of the rat: identity of the hypoxic sensor // *J. Physiol.* – 2001. – **536**, №1. – P.211–224.
 37. Lehenky V., Zelensky S., Stefanov A., Soloviev A. Effects of nitric oxide donors on a type vascular smooth muscle preactivation // *Cardiovasc. Toxicol.* – 2002. – **2**. – P.151–160.
 38. Li H., Oehrlein S.A., Wallerath T. et al. Activation of protein kinase C alpha and/or epsilon enhances transcription of the human endothelial nitric oxide synthase gene // *Mol. Pharmacol.* – 1998. – **53**. – P.630–637.
 39. Liedtke C.M., Raghuram V., Yun C.C., Wang X. Role of a PDZ1 domain of NHERF1 in the binding of airway epithelial RACK1 to NHERF1 // *Amer. J. Physiol. Cell Physiol.* – 2004. – **286**. – P.C1037–C1044.
 40. Liou Y.M., Morgan K.G. Redistribution of protein kinase C isoforms in association with vascular hypertrophy of rat aorta // *Amer. J. Physiol.* – 1994. – **267**. – P.C980–C989.
 41. Massett M.P., Ungvari Z., Csiszar A. et al. Different roles of PKC and MAP kinases in arteriolar constrictions to pressure and agonists // *Ibid.* – 2002. – **283**. – P.H2282–H2287.
 42. Matsubara M., Hayashi N., Jing T., Titani K. Regulation of endothelial nitric oxide synthase by protein kinase C // *J. Biochem. (Tokyo)* – 2003. – **133**. – P.773–781.
 43. McNair L.L., Salamanca D.A., Khalil R.A. Endothelin-1 promotes Ca^{2+} antagonist-insensitive coronary smooth muscle contraction via activation of ϵ -protein kinase C // *Hypertension*. – 2004. – **43**. – P.897.
 44. Morgan K.G., Gangopadhyay S.S. Signal transduction in smooth muscle: invited review: cross-bridge regulation by thin filament-associated proteins // *J. Appl. Physiol.* – 2001. – **91**. – P.953–962.
 45. Nakajima S., Kawakami M., Ueda M. 12-Deoxyphorbol 13-isobutyrate contracts isolated rat thoracic arteries // *Eur. J. Physiol.* – 1991. – **195**. – P.145–150.
 46. Nakayama K., Obara K., Tanabe Y. et al. Interactive role of tyrosine kinase, protein kinase C, and Rho/Rho kinase systems in the mechanotransduction of vascular smooth muscles // *Biorheology*. – 2003. – **40**. – P.307–314.
 47. Newton A.C. Regulation of protein kinase C // *Curr. Opin. Cell Biol.* – 1997. – **9**. – P.161–167.
 48. Ohanian V., Ohanian J., Shaw L. et al. Identification of protein kinase C isoforms in rat mesenteric small arteries and their possible role in agonist-induced contraction // *Circulat. Res.* – 1996. – **78**. – P.806–812.
 49. Olsson M.C., Patel J.R., Fitzsimons D.P. et al. Basal myosin light chain phosphorylation is a determinant of Ca^{2+} sensitivity of force and activation dependence of the kinetics of myocardial force development // *Amer. J. Physiol. Heart Circulat. Physiol.* – 2004. – **287**. – P.H2712–H2718.
 50. Pass J.M., Zheng Y., Wead W.B. et al. PKC-epsilon activation induces dichotomous cardiac phenotypes and modulates PKC epsilon-RACK interactions and RACK expression // *Ibid.* – 2001. – **280**. – P.H946–H955.
 51. Phelps D.T., Ferro T.J., Higgins P.J. et al. Tumor necrosis factor induces the peroxynitrite-mediated depletion of lung endothelial glutathione via protein kinase C activation // *Amer. J. Physiol. Lung Cell Mol. Physiol.* – 1995. – **269**. – P.L551–L559.
 52. Sato A., Hattori Y., Fukao M. et al. A role of myofilament Ca^{2+} sensitivity in enhanced vascular reactivity in cardiomyopathic hamster // *Eur. J. Pharmacol.* – 1998. – **353**, №2-3. – P.247–256.
 53. Serfilippi G.L., Ferro T.J., Johnson A. The activation of protein kinase C mediates the alteration in pulmonary vasoreactivity induced by tumor necrosis factor- α // *Amer. J. Physiol.* – 1994. – **267**. – P.L282–L290.
 54. Slish D.F., Welsh D.G., Brayden J.E. Diacylglycerol and protein kinase C activate cation channels involved in myogenic tone // *Ibid.* – 2002. – **283**. – P.H2196–H2201.
 55. Sohn U.D., Cao W., Tang D.-C. et al. Myosin light chain kinase- and PKC-dependent contraction of LES and esophageal smooth muscle // *Amer. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol.* – 2001. – **281**. – P.467–478.
 56. Soloviev A., Basilyuk O. Evidence for decrease in myofilament responsiveness to Ca^{2+} during hypoxia in spontaneously active vascular smooth muscle in rats // *Exp. Physiol.* – 1993. – **18**. – P.395–402.
 57. Soloviev A., Bershtein S. The contractile apparatus in vascular smooth muscle cells of spontaneously hypertensive rats possess increased calcium sensitivity: the possible role of protein kinase C // *J. Hypertens.* – 1992. – **10**. – P.131–136.
 58. Soloviev A., Lehenky V., Zelensky S., Hellstrand P. Nitric oxide relaxes rat tail artery smooth muscle by cyclic GMP-independent decrease in calcium sensitivity of myofilaments // *Cell Calcium*. – 2004. – **36**. – P.165–173.
 59. Soloviev A.I., Parshikov A.V., Stefanov A.V. Evidence for the involvement of protein kinase C in depression of endothelium-dependent vascular responses in spontaneously hypertensive rats // *J. Vasc. Res.* – 1998. – **35**. – P.325–331.
 60. Soloviev A., Tishkin S., Zelensky S. et al. Ionizing radiation alters myofilament calcium sensitivity in vas-

- cular smooth muscle: Potential role of protein kinase C // Amer. J. Physiol. Regulat. Integrat. Compar. Physiol. – 2005. – **289**. – P. R755–R762.
61. Soloviev A., Tishkin S., Parshikov A. et al. Mechanisms of endothelium dysfunction after ionized radiation: selective empairement of the nitric oxide component of endothelium–dependent vasodilation // Br. J. Pharmacol. – 2003. – **138**. – P.837–842.
 62. Somlyo A.P., Somlyo A.V. Ca²⁺ sensitivity of smooth muscle and nonmuscle myosin II: modulated by G proteins, kinases, and myosin phosphatase // Physiol. Rev. – 2003. – **83**. – P.1325–1358.
 63. Thomson S., Clayton A.L., Hazzalin C.A. et al. The nucleosomal response associated with immediate–early gene induction is mediated via alternative MAP kinase cascades: MSK1 as a potential histone H3/HMG-14 kinase // EMBO J. – 1999. – **18**. – P.4779–4793.
 64. Tsai B.M., Wang M. Hypoxic pulmonary vasoconstriction mediated expression by protein kinase C // Amer. J. Physiol. – 2004. – 287. – P.L1215–L1219.
 65. Uehara V., Ishii M., Ishimitsu F., Sugimoto F. Enhanced phospholipase C activity in the vascular wall of spontaneously hypertensive rats // Hypertension. – 1988. – **11**. – P.28–33.
 66. Vondriska T.M., Klein J.B., Ping P. Use of functional proteomics to investigate PKCε–mediated cardioprotection: the signaling module hypothesis // Amer. J. Physiol. Heart Circulat. Physiol. – 2001. – **280**. – P.H1434–H1441.
 67. Vondriska T.M., Zhang J., Song C. et al. PKCε–Src modules direct signal transduction in NO–induced cardioprotection: complex formation as a means for cardioprotective signaling // Circulat. Res. – 2001. – **88**. – P.1306–1313.
 68. Waypa G.B., Marks J.D., Mack M.M. et al. Mitochondrial reactive oxygen species trigger calcium increases during hypoxia in pulmonary arterial myocytes // Ibid. – 2002. – **91**, №8. – P.719–726.
 69. Wesselman J.P.M., Spaan J.A.E., Van Bavel E. Role of protein kinase C in myogenic calcium–contraction coupling of rat cannulated mesenteric small arteries // Clin. Exp. Pharmacol. Physiol. – 2001. – **28**, №10. – P.848–855.
 70. Wu H.M., Yuan Y., Zawieja D.C. et al. Role of phospholipase C, protein kinase C, and calcium in VEGF–induced venular hyperpermeability // Amer. J. Physiol. – 1999. – **276**. – P.H535–H542.
 71. Xiao Z.L., Andrada M.J.P., Biancani P., Behar J. Reactive oxygen species (H O): effects on the gallbladder muscle of guinea pigs // Amer. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol. – 2002. – **282**. – P.300–306.
 72. Zharikov S.I., Herrera H., Block E.R. Role of membrane potential in hypoxic inhibition of L-arginine uptake by lung endothelial cells // Amer. J. Physiol. – 1997. – **272**. – P.L78–L84.
 73. Zhong J., Wang G.X., Hatton W.J. et al. Regulation of volume-sensitive outwardly rectifying anion channels in pulmonary arterial smooth muscle cells by protein kinase C // Amer. J. Physiol. Cell. Physiol. – 2002. – **283**. – P.C1627–C1636.

*Ин-т фармакології та токсикології АМН України,
Київ*

*Матеріал надійшов до
редакції 07.06.2006*