

T. Tsarenko, PhD student, L. Gayda, PhD, O. Kravchenko, PhD.
Taras Shevchenko National University of Kyiv, Kyiv, Ukraine

ENDOTOXICATION INDICATORS IN THE BLOOD OF PATIENTS WITH ISCHEMIC STROKE COMPLICATED BY TYPE TWO DIABETES MELLITUS

Diabetes is one of the generally accepted factors of acute cerebral blood flow disorders. Numerous studies have shown involvement of many factors in the pathogenesis of diabetic cerebral disorders, the most important of which are the metabolic changes, including endotoxication. The aim of this study was to measure the endotoxication parameters and total protein and albumin contents in the blood of patients with ischemic stroke and patients with stroke complicated by type 2 diabetes. Also the average sex, age of the patients, body mass index (BMI) and blood glucose and lipoproteins levels, different disease complication presents and NIH Stroke Scale with Barthel index were determined.

The investigation had shown that patients with ischemic stroke, including complicated by insulin independent diabetes, were characterized by hypoproteinemia with the absence of marked changes of albumin content. The middle mass molecule (MSM) and oligopeptide contents revealed the presence of endogenous intoxication. These parameters, exceeding the control by 1.5 times, were high independently of hyperglycemia presence. The results also allowed to establish differences in BMI, hyperlipoproteinemia and increasing of NIHSS in patients with ischemic stroke and diabetes mellitus type 2 comparing with stroke alone. Thus, the development of ischemic stroke separately and under conditions of type II diabetes was characterized by increasing rates of endotoxication (middle mass molecule and oligopeptides contents) in the blood of patients, that with hypoproteinemia and hyperlipidemia may cause the secondary pathobiochemical changes in the head brain cells and mediate the negative effects of acute disorders of cerebral blood circulation.

Key words: ischemic stroke, type 2 diabetes, middle mass molecules, oligopeptides, endotoxication,, body mass index.

УДК 612.133; 616.132; 615.255; 611.018.61; 615.252

І. Кізуб, канд. біол. наук, О. Харченко, канд. біол. наук,
О. Костюк, канд. біол. наук, Л. Остапченко, д-р біол. наук
Київський національний університет імені Тараса Шевченка, Київ,
К. Клименко, канд. біол. наук, А. Соловйов, д-р біол. наук
ДУ "Інститут фармакології та токсикології НАМН України", Київ

УЧАСТЬ ПРОТЕЇНКІНАЗИ С У МЕХАНІЗМАХ ПОРУШЕННЯ СУДИННОГО ТОНУСУ ЗА УМОВ ЦУКРОВОГО ДІАБЕТУ. ЧАСТИНА 4

Цукровий діабет (ЦД) супроводжується розвитком порушень судинного тонусу. До розвитку цих порушень залучений регуляторний фермент протеїнкіназа С (ПКС). Багато даних свідчать про те, що скоротливі відповіді гладеньких м'язів судин суттєво підвищені за умов ЦД і ендотелій-незалежні механізми пов'язані із ПКС також залучені до цього процесу. Такими механізмами є ПКС-опосередковане пригнічення струму через Ca^{2+} -керовані K^{+} -канали великої провідності ($ВК_{Ca}$) в гладеньком'язових клітинах (ГМК) судин та Ca^{2+} -сенситизація міофіламентів ГМК. ПКС є потенційною терапевтичною мішенню для лікування діабетичних судинних порушень. Серед інгібіторів ПКС вже існує декілька субстанцій, зокрема рубоксістаурін, індолілмалеїмід та його похідні. Нещодавно винайдений метод РНК-інтерференції (РНКі) є важливим інструментом для пригнічення генів і також може бути застосований для пригнічення ПКС та усунення судинних ускладнень за ЦД.

Ключові слова: цукровий діабет, протеїнкіназа С, судинний тонус, і гладенькі м'язи судин, Ca^{2+} -сенситизація, РНК-інтерференція.

Залучення протеїнкінази С (ПКС) до ендотелій-незалежного зростання скоротливості гладеньких м'язів судин за цукрового діабету (ЦД). Хоча численні дослідження продемонстрували, що ЦД впливає на судинну функцію через пригнічення ендотелій-залежної вазодилатації, результати інших досліджень свідчать, що ЦД також призводить до зростання судинного тонусу за участю механізмів, що не пов'язані із впливом ендотелію [2, 19, 31, 54]. Багато даних свідчать про те, що скоротливі відповіді гладеньких м'язів судин суттєво підвищені за умов ЦД [14, 19, 22, 31, 54]. Дослідження з використанням різних експериментальних моделей ЦД у тварин показали, що вазоконстрикція, яка опосередкована активацією α_1 -адренорецепторів судинних гладеньком'язових клітин (ГМК), в артеріях є підвищеною [6, 22, 34, 52] і ПКС є залученою до цього процесу [2, 19, 31]. Зокрема, було встановлено, що ендотелій-незалежна вазоконстрикція, яка опосередковується активацією простагландинових рецепторів Е 1 та 3 (EP1/EP3) підсилена в очеревинних артеріях щурів із ЦД 2-го типу та є надзвичайно чутливою до пригнічення ПКС- δ ізоформи [14].

ПКС-опосередковане пригнічення K^{+} -каналів в ГМК судин за ЦД. Калієві (K^{+}) канали відіграють важливу ролі у регуляції потенціалу спокою ГМК судин та їхньої скоротливості [33]. Пригнічення K^{+} -каналів в судинних ГМК викликає деполяризацію сарколеми та, внаслідок цього, зростання внутрішньоклітинної концентрації іонів Ca^{2+} ($[Ca^{2+}]_i$), що призводить до скорочення ГМК та, відповідно, вазоконстрикції [33]. Деполяризація плазматичної мембрани активує вхід Ca^{2+} через потенціал-

залежні Ca^{2+} -канали L-типу та вивільнення Ca^{2+} із інозитол-1,4,5-трифосфат- та ріанодин-чутливих внутрішньоклітинних Ca^{2+} -депо [32].

Ca^{2+} -керовані K^{+} -канали великої провідності ($ВК_{Ca}$) є домінуючими K^{+} -каналами в ГМК судин і відіграють суттєву роль у регуляції судинної функції [16, 33]. Активність $ВК_{Ca}$ -каналів регулюється їхньою допоміжною субодиницею $\beta 1$ ($ВК_{Ca}\beta 1$) [32]. Дані, що існують, вказують на те, що функція судинних $ВК_{Ca}$ -каналів є пригніченою у тварин із моделями ЦД обох типів [30], що пов'язано із зниженою експресією $ВК_{Ca}\beta 1$ в судинних ГМК [24, 25], а також, із зниженням активності формуючої пору субодиниці α ($ВК_{Ca}\alpha$) під дією реактивних форм кисню (РФК) [25]. Пригнічення $ВК_{Ca}$ -струму також було показано у ГМК мікросудин щурів із інсулін-резистентністю [11].

На артеріях мишей із стрептозоциновою (СТЗ) моделлю діабету 1-го типу та ГМК коронарних артерій людини, культивованих за умов високої концентрації глюкози, було встановлено, що знижена експресія $ВК_{Ca}\beta 1$ пов'язана із зростанням активності ПКС- β ізоформи [24]. Пригнічення ПКС- β відновлювало опосередковану $ВК_{Ca}$ -каналами вазодилатацію у діабетичних мишей [24]. Нещодавно ми також показали, що ПКС- δ є залученою до пригнічення загального K^{+} -струму в ГМК аорти щурів із СТЗ-моделлю ЦД [20]. Було також показано, що високі концентрації глюкози через ПКС-опосередковані процеси та оксидативний стрес пригнічують потенціал-залежний K^{+} -струм (K_v) в артеріальних ГМК, приводячи до деполяризації ГМК судин та вазоконстрикції [35, 47].

Потрібно також зауважити, що декілька ранніх досліджень показали досить суперечливі дані щодо мож-

ливого залучення зростання активності $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATФзи}$ у судинних тканинах діабетичних тварин [10, 17, 18, 53] та активації ПКС до цих змін [21, 53]. Однак, беручи до уваги те, що інші результати свідчать про відсутність змін у активності $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATФзи}$ ГМК судин за умов ЦД [42], роль $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATФзи}$ у механізмах судинної гіперскоротливості за ЦД та залучення ПКС до цього механізму потребує подальшого з'ясування.

ПКС-опосередкована Ca^{2+} -сенситизація міофіламентів ГМК судин за ЦД. Добре відомо, що головною умовою для розвитку скоротливої відповіді гладеньких м'язів судин є зростання $[\text{Ca}^{2+}]_i$. Було встановлено, що як зростання входу Ca^{2+} ззовні, так і його вивільнення із внутрішньоклітинних депо, є залученими до підвищеної судинної реактивності за умов ЦД [3, 52]. Деякі ранні дослідження показали, що стимуляція ізольованих сегментів аорти діабетичних щурів норадреналіном супроводжується зростанням входу Ca^{2+} у порівнянні із судинами контрольних тварин [26, 52]. Інші автори також встановили залучення зростання внутрішньоклітинної концентрації Ca^{2+} до механізмів судинної гіперскоротливості за ЦД [3].

Однак, існує один суперечливий факт, який полягає в тому, що вхід Ca^{2+} через потенціал-залежні та депо-керовані Ca^{2+} -канали в ГМК судин є парадоксально пригніченим за умов ЦД [8, 51]. Тому зростання чутливості скоротливих білків до іонів Ca^{2+} , або Ca^{2+} -сенситизацію, було запропоновано як найбільш суттєвий та загальний механізм розвитку підвищеної судинної скоротливості, що пов'язана із ЦД [19, 31, 54]. На підтримку цього твердження існують дані про те, що

підсилені скоротливі відповіді на норадреналін очерединних артерій діабетичних щурів не пов'язані із відповідним зростанням $[\text{Ca}^{2+}]_i$ [6]. Подібним чином, за умов високої концентрації глюкози констрикція аорти, викликана тромбоксаном A_2 , є підвищеною незалежно від рівня внутрішньоклітинної концентрації Ca^{2+} [34]. Зростання $[\text{Ca}^{2+}]_i$ призводить до активації кальмодулін (CaM)-залежної кінази легких ланцюгів міозину (КЛЛМ), яка каталізує фосфорилування легких ланцюгів міозину (ЛЛМ), приводячи до активації актин-міозинової взаємодії в судинних ГМК та їх скорочення [39, 46]. На додаток до цього первинного механізму, у ГМК судин існують декілька модулюючих механізмів, які можуть змінювати силу скорочення м'язів незалежно від існуючої $[\text{Ca}^{2+}]_i$ [39, 46].

Було встановлено, що до механізму зростання чутливості міофіламентів до іонів Ca^{2+} залучені ПКС [23, 40] та Rho-залежна кіназа (RhoK) [23, 38, 49] (див. схему на рис. 1). В цьому механізмі ПКС- та RhoK-опосередковані шляхи збігаються на фосфорилуванні за Thr38 інгібіторного білку фосфатази легких ланцюгів міозину (ФЛЛМ), що має назву 17 кДа інгібітор ПКС-залежної протеїнфосфатази-1 (CPI-17) [39, 40, 49]. Фосфорильований білок CPI-17 зв'язується із каталітичною субодиницею ФЛЛМ, ПКС-залежною протеїнфосфатазою-1 (PP1), пригнічуючи таким чином активність ФЛЛМ [12]. На додаток до цього, RhoK може фосфорилувати регуляторну субодиницю ФЛЛМ, MYPT1, що також пригнічує активність фосфатази [13, 23, 38, 49]. Пригнічення ФЛЛМ призводить до підсилення фосфорилування ЛЛМ за будь-якого рівня $[\text{Ca}^{2+}]_i$ та активності КЛЛМ [13].

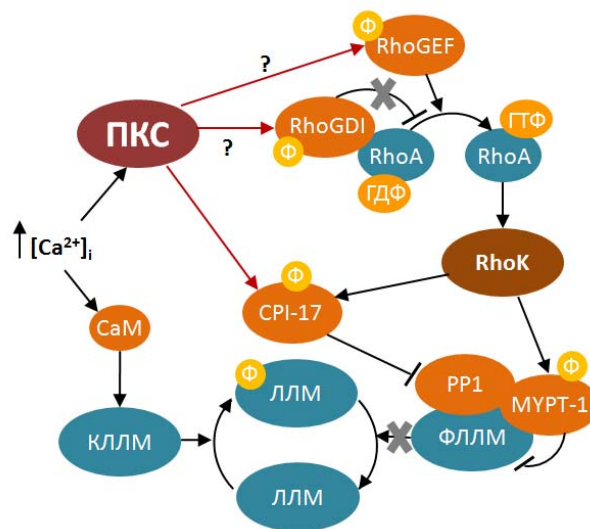


Рис. 1. Схема, що ілюструє ПКС-опосередкований механізм Ca^{2+} -сенситизації скоротливих білків у ГМК судин за ЦД. Пояснення див. у тексті

Таким чином, цей механізм може суттєво регулювати судинний тонус [38, 46]. Mueed та співавтори [31] показали, що підсилені скоротливі відповіді очерединної артерії СТЗ-діабетичних щурів у відповідь на стимуляцію α_1 -адренорецепторів ГМК супроводжуються зростанням рівня активності ПКС- α та - ϵ ізоформ, та зростанням ПКС-залежного фосфорилування CPI-17. Нами також нещодавно було показано, що підвищений рівень скоротливості ГМК артерій у щурів із СТЗ-індукованим ЦД 1-го типу пов'язаний із підвищеною чутливістю міофіламентів до Ca^{2+} і обидва ферменти, ПКС та RhoK, суттєво сприяють цьому процесу в діабетичних судинах [19]. Було також показано, що активність RhoK є підви-

щеною в ГМК діабетичних судин [2, 54] і RhoK-опосередковане фосфорилування білку CPI-17 збільшеним в ГМК судин мишей із генетичною моделлю ЦД 2-го типу (db/db) та ГМК, що були культивовані за високих концентрацій глюкози [54]. Показано, що до розвитку судинного гіпертонусу за ЦД залучені як активація RhoK-залежних шляхів фосфорилування CPI-17, так і зростання загального рівня CPI-17 [54], а активація CPI-17 у db/db діабетичних мишей також асоційована із значним зростанням артеріального тиску крові [48]. Нещодавно було встановлено, що судинна дисфункція в аорті щурів із ЦД 1-го типу залежить від підвищеної активності RhoK ізоформи ROCK2 [7]. Зв'язок між

PKC- та RhoK-опосередкованими шляхами в механізмах зростання тонулу ГМК судин за умов гіперглікемії та ЦД було продемонстровано [54]. Показано, що за умов високого рівня глюкози активація PKC є необхідною умовою для активації RhoK та наступного фосфорилування CPI-17 [54]. Результати цього дослідження свідчать також, що хоча PKC і може безпосередньо фосфорилувати CPI-17 в ГМК судин під дією деяких агоністів за фізіологічних умов, PKC не є тим ферментом, що може фосфорилувати CPI-17 за гіперглікемічних умов [54]. Також було встановлено, що рівні мРНК та білку RhoK можуть зростати внаслідок впливу збоку PKC і, скоріше за все, за умов ЦД RhoK та CPI-17 є ланками, активність яких модулюється під дією PKC [54]. Можливо також, що PKC в ГМК судин опосередковує викликану гіперглікемією активацію білків RhoA, RhoGDI та RhoGEF шляхом їхнього фосфорилування, як це було продемонстровано на кардіоміоцитах діабетичних щурів [45]. RhoA, RhoGDI та RhoGEF являють собою мономерні G-білки (малі ГТФази), які є активаторами або регуляторами RhoK [23, 27, 38, 54]. Існує свідчення того, що рівні мРНК та білку RhoA підвищені в ГМК артерій гіпертензивних діабетичних щурів та мишей [29, 54].

Перспективи застосування пригнічення PKC у терапії судинних порушень за ЦД. Розробка інноваційних фармакологічних засобів, що здатні впливати на активність PKC, є надзвичайно важливою для розвитку нових клінічних стратегій лікування та запобігання розвитку судинних ускладнень, що асоційовані із ЦД. Наш огляд показує, що PKC є потенційною терапевтичною мішенню для лікування діабетичних судинних порушень. На даний час серед інгібіторів окремих ізоформ PKC вже існує декілька субстанцій, що проходять клінічні випробування для лікування діабетичних судинних ускладнень [15]. Рубоксістаурін (LY333531), інгібітор PKC- β_2 , який може бути застосований перорально, на даний час інтенсивно досліджується для лікування діабетичної ретинопатії [9, 28, 43], нефропатії [9, 28, 43] та нейропатії [4, 9, 28] і виявив себе нешкідливим для застосування [1, 28]. Індолілмалеїмід та його похідні, які є неселективними інгібіторами PKC або селективними до PKC- θ ізоформи, також були залучені до клінічних випробувань з метою лікування діабетичних ускладнень, здебільшого нефропатії, кардіоміопатії та нейропатії [44].

Однак, проблема у селективності щодо структурно схожих різних ізоформ PKC залишається найбільшою перешкодою у створенні безпечних інгібіторів PKC, що можуть бути застосовані у клініці [44]. Нещодавно винайдений метод РНК-інтерференції (РНКі) швидко набуває популярності як важливий інструмент для пригнічення генів [5]. Введення малих інтерферентних РНК (міРНК), коротколанцюгових молекул РНК, що складаються із 21-22 нуклеотидів, призводить до послідовності-специфічного пригнічення експресії визначеного гену [5, 41]. Основана на РНКі терапія може мати значні переваги над традиційними методами лікування захворювань, включаючи широкий спектр застосування, терапевтичну точність та специфічність, та відсутність побічних ефектів у порівнянні із існуючими фармакологічними засобами пригнічення PKC. Такі переваги, поряд із відносно легкими засобами синтезу та низькою ціною продукту, роблять міРНК привабливим новим класом низькомолекулярних ліків. Основані на РНКі ліки дозволяють руйнувати певну цільову РНК та, таким чином, блокувати синтез білку, який пов'язаний із розвитком певного захворювання [37]. Як терапевтичний інструмент методика РНКі є багатообіцяючою щодо контролю перебігання широкого спектру захворювань [36].

Незважаючи на декілька невирішених питань щодо безпечного використання міРНК, вже зараз декілька фармацевтичних компаній по всьому світу рухаються у напрямку розробки терапії, що основана на РНКі для боротьби із захворюваннями серцево-судинної системи [36], ЦД та його ускладнень [50]. РНКі може бути адаптовано для боротьби із будь-якими захворюваннями, що мають визначену молекулярну мішень. Як тільки мішені РНКі та відповідні маркери будуть точно встановлені в діабетичних тканинах, застосування міРНК може стати надзвичайно ефективним терапевтичним засобом для інактивації генів PKC для нормалізації судинної функції за умов ЦД. Наші нещодавні дослідження показали, що пригнічення гену PKC- δ з використанням цільових міРНК в значній мірі відновлюють пригнічений K^+ -струм в ГМК та ендотелій-залежну вазодилатацію в аорті щурів із СТЗ-індукованим діабетом 1-го типу [20]. Ці зміни супроводжувались зниженням рівня мРНК PKC- δ в діабетичних судинах та зниженням гіперпродукції РФК [20].

Заключення. Як можна бачити із представленого огляду, PKC є надзвичайно важливою ланкою у патогенезі розвитку судинних ускладнень, що викликані ЦД. Сучасним завданням медицини є відновлення або запобігання розвитку порушень судинної функції за умов гіперглікемії. Для вирішення цього питання необхідно чітко ідентифікувати роль PKC у клітинних механізмах, які запускають та підтримують розвиток викликаних ЦД судинних порушень, і, таким чином, PKC може бути важливою фармакологічною мішенню для лікування пацієнтів із діабетом та відповідними судинними порушеннями. Дуже важливим є також точна ідентифікація не лише виявлення головних фармакологічних мішеней для терапії, але також внутрішньоклітинних структур та механізмів в клітинах судинної стінки безпосередньо пов'язаних із активацією PKC, що може слугувати в якості маркерів ефективності терапії. Такими компонентами є іонні канали, експресія та функція ферментів, компоненти ендотелій-залежної судинної дилатації, Ca^{2+} -сенситизація міофіламентів ГМК судин та інше. Гладенькі м'язи є кінцевою загальною ланкою для багатьох захворювань і ЦД не є виключенням. Таким чином, повне розуміння механізмів небажаних змін у скоротливості гладеньких м'язів судин за умов ЦД є важливим шагом в напрямку створення нових терапевтичних засобів.

Щодо "родини" PKC, це насправді вдала назва для групи ферментів, які контролюють велику кількість важливих функцій та має аналогію із італійською "Cosa Nostra". Вона відома як асоціація кримінальних угруповань, знаних як "родина", що поділяють багато спільних рис в структурній організації та механізмах дії. Однак, на відміну від добре структурованої "Cosa Nostra", родина PKC, на жаль, характеризується надто заплутаними аспектами щодо багатofункціональності та варіабельності серед різних клітин. В будь-якому випадку, ми впевнені, що буде досягнуто повне розуміння участі PKC в регуляторних клітинних шляхах та взаємодії із різними сигнальними системами, що пов'язані із розвитком судинних порушень за ЦД.

Список використаних джерел

1. Aiello L. P. Oral protein kinase C β inhibition using ruboxistaurin: efficacy, safety, and causes of vision loss among 813 patients (1,392 eyes) with diabetic retinopathy in the protein kinase C β inhibitor-diabetic retinopathy study and the protein kinase C β inhibitor-diabetic retinopathy study 2 / L. P. Aiello, L. Vignati, M. J. Sheetz [et al.] // *Retina*. – 2011. – Vol. 31. – P. 2084–2094. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov>
2. Akhtar S. Activation of ErbB2 and downstream signalling via Rho kinases and ERK1/2 contributes to diabetes-induced vascular dysfunction / S. Akhtar, M. H. M. Yousif, G. S. Dhaunsi [et al.] // *PLoS One*. – 2013. – Vol. 8, N 6. – e67813. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov>

3. Balasubramanyam M. Evidence for mechanistic alterations of Ca^{2+} homeostasis in type 2 diabetes mellitus / M. Balasubramanyam, R. A. Balaji, B. Subashini [et al.] // *Int J Exp Diabetes Res.* – 2001. – Vol. 1. – P. 275–287. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov>
4. Bansal D. Ruboxistaurin for the treatment of diabetic peripheral neuropathy: a systematic review of randomized clinical trials / D. Bansal, Y. Badhan, K. Gudala [et al.] // *Diabetes Metab J.* – 2013. – Vol. 37. – P. 375–384. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov>
5. Caplen N. J. Specific inhibition of gene expression by small double-stranded RNAs in invertebrate and vertebrate systems / N. J. Caplen, S. Parrish, F. Imani [et al.] // *Proc Natl Acad Sci USA.* – 2001. – Vol. 98. – P. 9742–9747. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov>
6. Chow W. L. Noradrenaline-induced changes in intracellular Ca^{2+} and tension in mesenteric arteries from diabetic rats / W. L. Chow, L. Zhang, K. M. MacLeod // *Br J Pharmacol.* – 2001. – Vol. 134. – P. 179–187. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov>
7. Cicek F. A. Role of ROCK upregulation in endothelial and smooth muscle vascular functions in diabetic rat aorta / F. A. Cicek, H. B. Kandilci, B. Turan // *Cardiovasc Diabetol.* – 2013. – Vol. 12. – P. 51. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov>
8. Curtis T. M. Diabetes induced activation of protein kinase C inhibits store-operated Ca^{2+} uptake in rat retinal microvascular smooth muscle / T. M. Curtis, E. H. Major, E. R. Trimble [et al.] // *Diabetologia.* – 2003. – Vol. 46. – P. 1252–1259. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov>
9. Danis R. P. Ruboxistaurin: PKC- β inhibition for complications of diabetes / R. P. Danis, M. J. Sheetz // *Expert Opin Pharmacother.* – 2009. – Vol. 10, N 17. – P. 2913–2925. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov>
10. Davel A. P. Effects of ouabain on the pressor response to phenylephrine and on the sodium pump activity in diabetic rats / A. P. Davel, L. V. Rossoni, D. V. Vassallo // *Eur J Pharmacol.* – 2000. – Vol. 406. – P. 419–427. Available from: <http://www.sciencedirect.com>
11. Dimitroglou C. Potassium (BK_{Ca}) currents are reduced in microvascular smooth muscle cells from insulin-resistant rats / C. Dimitroglou, G. Han, A. Miller [et al.] // *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* – 2002. – Vol. 282. – P. 908–917. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov>
12. Eto M. Regulation of cellular protein phosphatase-1 (PP1) by phosphorylation of the CPI-17 family, C-kinase-activated PP1 inhibitors / M. Eto // *J Biol Chem.* – 2009. – Vol. 284. – P. 35273–35277. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov>
13. Feng J. Inhibitory phosphorylation site for Rho-associated kinase on smooth muscle myosin phosphatase / J. Feng, M. Ito, K. Ichikawa [et al.] // *J Biol Chem.* – 1999. – Vol. 274. – P. 37385–37390. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov>
14. Ishida K. Protein kinase C delta contributes to increase in EP3 agonist-induced contraction in mesenteric arteries from type 2 diabetic Goto-Kakizaki rats / K. Ishida, T. Matsumoto, K. Taguchi [et al.] // *Eur J Physiol.* – 2012. – Vol. 463. – P. 593–602. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov>
15. Gerald P. Activation of protein kinase C isoforms and its impact on diabetic complications / P. Gerald, G. L. King // *Circ Res.* – 2010. – Vol. 106. – P. 1319–1331. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov>
16. Ghatta S. Large conductance, calcium-activated potassium channels: structural and functional implications / S. Ghatta, D. Nimmagadda, X. Xu [et al.] // *Pharm Ther.* – 2006. – Vol. 110, N 1. – P. 103–116. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov>
17. Gupta S. Hyperglycemia increases endothelial superoxide that impairs smooth muscle cell Na^+K^+ -ATPase activity / S. Gupta, E. Chough, J. Daley [et al.] // *Am J Physiol Cell Physiol.* – 2002. – Vol. 282. – P. 560–566. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov>
18. Gupta S. Role of endothelium-derived nitric oxide in stimulation of Na^+K^+ -ATPase activity by endothelium in rabbit aorta / S. Gupta, C. McArthur, C. Grady [et al.] // *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* – 1994. – Vol. 266. – P. 577–582. Available from: <http://ajpheart.physiology.org>
19. Kizub I. V. Rho kinase and protein kinase C involvement in vascular smooth muscle myofilament calcium sensitization in arteries from diabetic rats / I. V. Kizub, O. O. Pavlova, C. D. Johnson [et al.] // *Br J Pharmacol.* – 2010. – Vol. 159, N 8. – P. 1724–1731. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov>
20. Klymenko K. I. PKC- δ isozyme gene silencing restores vascular function in diabetic rat / K. I. Klymenko, T. V. Novokhatska, I. V. Kizub [et al.] // *J Basic Clin Physiol Pharmacol.* – 2014. – P. 1–9. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov>
21. Kowluru R. A. Abnormalities of retinal metabolism in diabetes or experimental galactosemia: V. Relationship between protein kinase C and ATPases / R. A. Kowluru, M. R. Jirousek, L. Stramm [et al.] // *Diabetes.* – 1998. – Vol. 47. – P. 464–469. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov>
22. Lee J.-H. The diabetes-induced functional and distributional changes of the alpha 1-adrenoceptor of the abdominal aorta and distal mesenteric artery from streptozotocin-induced diabetic rats / J.-H. Lee, J.-H. Bahk, S.-H. Park [et al.] // *Korean J Anesthesiol.* – 2011. – Vol. 60, N 4. – P. 272–281. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov>
23. Loirand G. Rho kinases in cardiovascular physiology and pathophysiology / G. Loirand, P. Guerin, P. Pacaud // *Circ Res.* – 2006. – Vol. 98. – P. 322–334. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov>
24. Lu T. Reactive oxygen species signaling facilitates FOXO-3a/FBXO-dependent vascular BK channel b1 subunit degradation in diabetic mice / T. Lu, Q. Chai, L. Yu [et al.] // *Diabetes.* – 2012. – Vol. 61, N 7. – P. 1860–1868. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov>
25. Lu T. [Impaired vascular BK channel function in type 2 diabetes mellitus] / T. Lu, H.-C. Lee. – Shanghai: InTech; 2011. – P. 55–70.
26. Mahmoudian M. Diabetes-induced changes in the contractility of the aorta and pA2 of nifedipine in the rat / M. Mahmoudian, F. Behnaz, E. Rezaei // *Acta Diabetol.* – 1996. – Vol. 33. – P. 114–117. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov>
27. Matsui T. Rho-associated kinase, a novel serine/threonine kinase, as a putative target for small GTP binding protein Rho / T. Matsui, M. Amano, T. Yamamoto [et al.] // *EMBO J.* – 1996. – Vol. 15. – P. 2208–2216. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov>
28. Mehta N. N. Selective PKC beta inhibition with ruboxistaurin and endothelial function in type-2 diabetes mellitus / N. N. Mehta, M. Sheetz, K. Price [et al.] // *Cardiovasc Drugs Ther.* – 2009. – Vol. 23. – P. 17–24. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov>
29. Miao L. Upregulation of small GTPase RhoA in the basilar artery from diabetic (mellitus) rats / L. Miao, J.W. Calvert, J. Tang [et al.] // *Life Sci.* – 2002. – Vol. 71. – P. 1175–1185. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov>
30. Mori A. Vasodilation of retinal arterioles induced by activation of BK_{Ca} channels is attenuated in diabetic rats / A. Mori, S. Suzuki, K. Sakamoto [et al.] // *Eur J Pharmacol.* – 2011. – Vol. 669, N 1–3. – P. 94–99. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov>
31. Mueed I. Role of the PKC/CPI-17 pathway in enhanced contractile responses of mesenteric arteries from diabetic rats to α -adrenoceptor stimulation / I. Mueed, L. Zhang, K. M. MacLeod // *Br J Pharmacol.* – 2005. – Vol. 146. – P. 972–982. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov>
32. Nauli S. M. Developmental changes in ryanodine- and IP $_3$ -sensitive Ca^{2+} pools in ovine basilar artery / S. M. Nauli, J. M. Williams, S. E. Akopov [et al.] // *Am J Physiol Cell Physiol.* – 2001. – Vol. 281. – P. 1785–1796. Available from: <http://ajpcell.physiology.org>
33. Nelson M. T. Physiological roles and properties of potassium channels in arterial smooth muscle / M. T. Nelson, J. M. Quayle // *Am J Physiol Cell Physiol.* – 1995. – Vol. 268. – P. 799–822. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov>
34. Nobe K. High-glucose enhances a thromboxane A $_2$ -induced aortic contraction mediated by an alteration of phosphatidylinositol turnover / K. Nobe, H. Suzuki, H. Nobe [et al.] // *J Pharmacol Sci.* – 2003. – Vol. 92. – P. 267–282. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov>
35. Rainbow R. D. Glucose reduces endothelin inhibition of voltage-gated potassium channels in rat arterial smooth muscle cells / R. D. Rainbow, M. E. Hardy, N. B. Standen [et al.] // *J Physiol.* – 2006. – Vol. 575. – P. 833–844. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov>
36. Reddy L. S. RNAi in medicine: current and future perspectives / L. S. Reddy, V. Sarojamma, V. Ramakrishna // *Biotechnol Mol Biol Rev.* – 2006. – Vol. 1, N 4. – P. 103–114. Available from: <http://www.academicjournals.org>
37. Rondinone C. M. Therapeutic potential of iRNA in metabolic diseases / C. M. Rondinone // *Biotechniques.* – 2006. – Vol. 40. – P. 31–36. Available from: <http://www.biotechniques.com>
38. Schofield A. V. Rho-associated coiled-coil kinase (ROCK) signaling and disease / A. V. Schofield, O. Bernard // *Crit Rev Biochem Mol Biol.* – 2013. – Vol. 48, N 4. – P. 301–316. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov>
39. Schubert R. The emerging role of Ca^{2+} sensitivity regulation in promoting myogenic vasoconstriction / R. Schubert, D. Lidington, S. S. Bolz // *Cardiovasc Res.* – 2008. – Vol. 77. – P. 8–18. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov>
40. Senba S. Identification of trimeric myosin phosphatase (PP1M) as a target for a novel PKC-potentiated protein phosphatase-1 inhibitory protein (CPI17) in porcine aorta smooth muscle / S. Senba, M. Eto, M. Yazawa // *J Biochem (Tokyo).* – 1999. – Vol. 125. – P. 354–362. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov>
41. Sledz C. A. RNA interference in biology and disease / C. A. Sledz, B. R. G. Williams // *Blood.* – 2005. – Vol. 106, N 3. – P. 787–794. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov>
42. Smith J. M. Na^+K^+ -ATPase activity in vascular smooth muscle from streptozotocin diabetic rat / J. M. Smith, D. J. Paulson, S. M. Solar // *Cardiovasc Res.* – 1997. – Vol. 34. – P. 137–144. Available from: <http://cardiovascres.oxfordjournals.org/>
43. Sobhia M. E. Protein kinase C β II in diabetic complications: survey of structural, biological and computational studies / M. E. Sobhia, B. K. Grewal, J. Bhat [et al.] // *Expert Opin Ther Targets.* – 2012. – Vol. 16, N 3. – P. 325–344. Available from: <http://www.tandfonline.com>
44. Sobhia M. E. Protein kinase C inhibitors: a patent review (2008–2009) / M. E. Sobhia, B. K. Grewal, S. M. L. Paul [et al.] // *Expert Opin Ther Pat.* – 2013. – Vol. 23, N 10. – P. 1297–1315. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov>
45. Soliman H. Diabetes-induced increased oxidative stress in cardiomyocytes is sustained by a positive feedback loop involving Rho-kinase and PKC β_2 / H. Soliman, A. Gador, Y.-H. Lu [et al.] // *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* – 2012. – Vol. 303, N 8. – P. 989–1000. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov>
46. Somlyo A. P. Ca^{2+} sensitivity of smooth muscle and nonmuscle myosin II: modulated by G proteins, kinases, and myosin phosphatase / A. P. Somlyo, A. V. Somlyo // *Physiol Rev.* – 2003. – Vol. 83. – P. 1325–1358. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov>
47. Straub S. V. Regulation of intracerebral arteriolar tone by Kv channels: effects of glucose and PKC / S. V. Straub, H. Girouard,

P. E. Doetsch [et al.] // *Am J Physiol Cell Physiol.* – 2009. – Vol. 297. – P. 788–796. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov>

48. Su W. Hypertension and disrupted blood pressure circadian rhythm in Type 2 diabetic db/db mice / W. Su, Z. Guo, D. C. Randall [et al.] // *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* – 2008. – Vol. 295. – P. 1634–1641. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov>

49. Swärd K. The role of RhoA and Rho-associated kinase in vascular smooth muscle contraction / K. Swärd, M. Mita, D. P. Wilson [et al.] // *Curr Hypertens Rep.* – 2003. – Vol. 5, N 1. – P. 66–72. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov>

50. Uprichard S. L. The therapeutic potential of RNA interference / S. L. Uprichard // *FEBS Lett.* – 2005. – Vol. 579. – P. 5996–6007. Available from: <http://www.sciencedirect.com>

51. Wang R. Altered L-type Ca^{2+} channel currents in vascular smooth muscle cells from experimental diabetic rats / R. Wang, Y. Wu, G. Tang [et al.] // *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* – 2000. – Vol. 278. – P. 714–722. Available from: <http://www.ajpheart.physiology.org>

52. White R. E. Vascular contraction induced by activation of membrane calcium ion channels enhanced in streptozotocin-diabetes / R. E. White, G. O. Carrier // *J Pharmacol Exp Ther.* – 1990. – Vol. 253, N 3. – P. 1057–1062. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov>

53. Xia P. Identification of the mechanism for the inhibition of $Na^{+}-K^{+}$ -ATPase by hyperglycemia involving activation of protein kinase C and cytosolic phospholipase A_2 / P. Xia, R. M. Kramer, G. L. King // *J Clin Invest.* – 1995. – Vol. 96. – P. 733–740. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov>

54. Xie Z. Up-regulation of CPI-17 phosphorylation in diabetic vasculature and high glucose cultured vascular smooth muscle cells / Z. Xie, W. Su, Z. Guo [et al.] // *Cardiovasc Res.* – 2006. – Vol. 69. – P. 491–501. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov>

References

- Aiello LP, Vignati L, Sheetz MJ, Zhi X, Girach A, Davis MD, et al. Oral protein kinase C β inhibition using ruboxistaurin: efficacy, safety, and causes of vision loss among 813 patients (1,392 eyes) with diabetic retinopathy in the protein kinase C β inhibitor-diabetic retinopathy study and the protein kinase C β inhibitor-diabetic retinopathy study 2. *Retina* 2011;31:2084–94. PubMed PMID: 21862954.
- Akhtar S, Yousif MHM, Dhaansi GS, Sarkhouh F, Chandrasekhar B, Attur S, et al. Activation of ErbB2 and downstream signalling via Rho kinases and ERK1/2 contributes to diabetes-induced vascular dysfunction. *PLoS One* 2013;8(6):e67813. PubMed PMID: 23826343.
- Balasubramanyam M, Balaji RA, Subashini B, Mohan V. Evidence for mechanistic alterations of Ca^{2+} homeostasis in type 2 diabetes mellitus. *Int J Exp Diabetes Res* 2001;1:275–87. PubMed PMID: 11467418.
- Bansal D, Badhan Y, Gudala K, Schifano F. Ruboxistaurin for the treatment of diabetic peripheral neuropathy: a systematic review of randomized clinical trials. *Diabetes Metab J* 2013;37:375–84. PubMed Central PMCID: PMC3816139.
- Caplen NJ, Parrish S, Imani F, Fire A, Morgan RA. Specific inhibition of gene expression by small double-stranded RNAs in invertebrate and vertebrate systems. *Proc Natl Acad Sci USA* 2001;98:9742–7. PubMed PMID: 11481446.
- Chow WL, Zhang L, MacLeod KM. Noradrenaline-induced changes in intracellular Ca^{2+} and tension in mesenteric arteries from diabetic rats. *Br J Pharmacol* 2001;134:179–87. PubMed Central PMCID: PMC1572921.
- Cicek FA, Kandilci HB, Turan B. Role of ROCK upregulation in endothelial and smooth muscle vascular functions in diabetic rat aorta. *Cardiovasc Diabetol* 2013;12:51. PubMed PMID: 23530857.
- Curtis TM, Major EH, Trimble ER, Schofield CN. Diabetes induced activation of protein kinase C inhibits store-operated Ca^{2+} uptake in rat retinal microvascular smooth muscle. *Diabetologia* 2003;46:1252–9. PubMed PMID: 12898009.
- Danis RP, Sheetz MJ. Ruboxistaurin: PKC- β inhibition for complications of diabetes. *Expert Opin Pharmacother* 2009;10(17):2913–25. PubMed PMID: 19929710.
- Davel AP, Rossoni LV, Vassallo DV. Effects of ouabain on the pressor response to phenylephrine and on the sodium pump activity in diabetic rats. *Eur J Pharmacol* 2000;406:419–27.
- Dimitroglou C, Han G, Miller A, Molero M, Fuchs LC, White RE, et al. Potassium (BK_{Ca}) currents are reduced in microvascular smooth muscle cells from insulin-resistant rats. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2002;282:908–17. PubMed PMID: 11834486.
- Eto M. Regulation of cellular protein phosphatase-1 (PP1) by phosphorylation of the CPI-17 family, C-kinase-activated PP1 inhibitors. *J Biol Chem* 2009;284:35273–7. PubMed Central PMCID: PMC2790955.
- Feng J, Ito M, Ichikawa K, Isaka N, Nishikawa M, Hartshorne DJ, et al. Inhibitory phosphorylation site for Rho-associated kinase on smooth muscle myosin phosphatase. *J Biol Chem* 1999;274:37385–90. PubMed PMID: 10601309.
- Ishida K, Matsumoto T, Taguchi K, Kamata K, Kobayashi T. Protein kinase C delta contributes to increase in EP3 agonist-induced contraction in mesenteric arteries from type 2 diabetic Goto-Kakizaki rats. *Eur J Physiol* 2012;463:593–602. PubMed PMID: 22371141
- Geraldes P, King GL. Activation of protein kinase C isoforms and its impact on diabetic complications. *Circ Res* 2010;106:1319–31. PubMed PMID: 20431074.
- Ghatta S, Nimmagadda D, Xu X, O'Rourke ST. Large conductance, calcium-activated potassium channels: structural and

functional implications. *Pharm Ther* 2006;110(1):103–16. PubMed PMID: 16356551.

17. Gupta S, Chough E, Daley J, Oates P, Tornheim K, Ruderman NB, et al. Hyperglycemia increases endothelial superoxide that impairs smooth muscle cell $Na^{+}-K^{+}$ -ATPase activity. *Am J Physiol Cell Physiol* 2002;282:560–6. PubMed PMID: 11832341.

18. Gupta S, McArthur C, Grady C, Ruderman NB. Role of endothelium-derived nitric oxide in stimulation of $Na^{+}-K^{+}$ -ATPase activity by endothelium in rabbit aorta. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 1994;266:577–82.

19. Kizub IV, Pavlova OO, Johnson CD, Soloviev AI, Zholos AV. Rho kinase and protein kinase C involvement in vascular smooth muscle myofilament calcium sensitization in arteries from diabetic rats. *Br J Pharmacol* 2010;159(8):1724–31. PubMed Central PMCID: PMC2925495.

20. Klymenko KI, Novokhatska TV, Kizub IV, Parshikov AV, Dosenko VE, Soloviev AI. PKC- δ isozyme gene silencing restores vascular function in diabetic rat. *J Basic Clin Physiol Pharmacol* 2014;1–9. PubMed PMID: 24468620.

21. Kowluru RA, Jirousek MR, Stramm L, Farid N, Engerman RL, Kern TS. Abnormalities of retinal metabolism in diabetes or experimental galactosemia: V. Relationship between protein kinase C and ATPases. *Diabetes* 1998;47:464–9. PubMed PMID: 11473058.

22. Lee J-H, Bahk J-H, Park S-H, Huh J. The diabetes-induced functional and distributional changes of the alpha 1-adrenoceptor of the abdominal aorta and distal mesenteric artery from streptozotocin-induced diabetic rats. *Korean J Anesthesiol* 2011;60(4):272–81. PubMed PMID: 21602978.

23. Loirand G, Guerin P, Pacaud P. Rho kinases in cardiovascular physiology and pathophysiology. *Circ Res* 2006;98:322–34. PubMed PMID: 23921309.

24. Lu T, Chai Q, Yu L, d'Uscio LV, Katusic ZS, He T, et al. Reactive oxygen species signaling facilitates FOXO-3a/FBXO-dependent vascular BK channel b1 subunit degradation in diabetic mice. *Diabetes* 2012;61(7):1860–8. PubMed Central PMCID: PMC4322788.

25. Lu T, Lee H-C. Impaired vascular BK channel function in type 2 diabetes mellitus. In: Croniger C, editor. *Medical complications of type 2 diabetes*. InTech; 2011. p. 55–70.

26. Mahmoudian M, Behnaz F, Rezaei E. Diabetes-induced changes in the contractility of the aorta and pA2 of nifedipine in the rat. *Acta Diabetol* 1996;33:114–7. PubMed PMID: 8870812.

27. Matsui T, Amano M, Yamamoto T, Chihara K, Nakafuku M, Ito M, et al. Rho-associated kinase, a novel serine/threonine kinase, as a putative target for small GTP binding protein Rho. *EMBO J* 1996;15:2208–16. PubMed Central PMCID: PMC450144.

28. Mehta NN, Sheetz M, Price K, Comiskey L, Amrutia S, Iqbal N, et al. Selective PKC beta inhibition with ruboxistaurin and endothelial function in type-2 diabetes mellitus. *Cardiovasc Drugs Ther* 2009;23:17–24. PubMed PMID: 18949545.

29. Miao L, Calvert JW, Tang J, Zhang JH. Upregulation of small GTPase RhoA in the basilar artery from diabetic (mellitus) rats. *Life Sci* 2002;71:1175–85. PubMed PMID: 12095538.

30. Mori A, Suzuki S, Sakamoto K, Nakahara T, Ishii K. Vasodilation of retinal arterioles induced by activation of BK_{Ca} channels is attenuated in diabetic rats. *Eur J Pharmacol* 2011;669(1–3):94–9. PubMed PMID: 21871885.

31. Mueed I, Zhang L, MacLeod KM. Role of the PKC/CPI-17 pathway in enhanced contractile responses of mesenteric arteries from diabetic rats to α -adrenoceptor stimulation. *Br J Pharmacol* 2005;146:972–82. PubMed PMID: 16205724.

32. Nauli SM, Williams JM, Akopov SE, Zhang L, Pearce WJ. Developmental changes in ryanodine- and IP3-sensitive Ca^{2+} pools in ovine basilar artery. *Am J Physiol Cell Physiol* 2001;281:1785–96.

33. Nelson MT, Quayle JM. Physiological roles and properties of potassium channels in arterial smooth muscle. *Am J Physiol Cell Physiol* 1995;268:799–822. PubMed PMID: 773230.

34. Nobe K, Suzuki H, Nobe H, Sakai Y, Momose K. High-glucose enhances a thromboxane A2-induced aortic contraction mediated by an alteration of phosphatidylinositol turnover. *J Pharmacol Sci* 2003;92:267–82. PubMed PMID: 12890893.

35. Rainbow RD, Hardy ME, Standen NB, Davies NW. Glucose reduces endothelin inhibition of voltage-gated potassium channels in rat arterial smooth muscle cells. *J Physiol* 2006;575:833–44. PubMed PMID: 16825302.

36. Reddy LS, Sarojamma V, Ramakrishna V. RNAi in medicine: current and future perspectives. *Biotechnol Mol Biol Rev* 2006;1(4):103–14.

37. Rondinone CM. Therapeutic potential of iRNA in metabolic diseases. *Biotechniques* 2006;40:31–6.

38. Schofield AV, Bernard O. Rho-associated coiled-coil kinase (ROCK) signaling and disease. *Crit Rev Biochem Mol Biol* 2013;48(4):301–16. PubMed PMID: 23601011.

39. Schubert R, Lidington D, Bolz SS. The emerging role of Ca^{2+} sensitivity regulation in promoting myogenic vasoconstriction. *Cardiovasc Res* 2008;77:8–18. PubMed PMID: 17764667.

40. Senba S, Eto M, Yazawa M. Identification of trimeric myosin phosphatase (PP1M) as a target for a novel PKC-potentiated protein phosphatase-1 inhibitory protein (CPI17) in porcine aorta smooth muscle. *J Biochem (Tokyo)* 1999;125:354–62. PubMed PMID: 9990134.

41. Sledz CA, Williams BRG. RNA interference in biology and disease. *Blood* 2005;106(3):787–94. PubMed Central PMCID: PMC1895153.

42. Smith JM, Paulson DJ, Solar SM. Na^+/K^+ -ATPase activity in vascular smooth muscle from streptozotocin diabetic rat. *Cardiovasc Res* 1997;34:137-44.

43. Sobhia ME, Grewal BK, Bhat J, Rohit S, Punia V. Protein kinase C β 11 in diabetic complications: survey of structural, biological and computational studies. *Expert Opin Ther Targets* 2012;16(3):325-44.

44. Sobhia ME, Grewal BK, Paul SML, Patel J, Kaur A, Haokip T, et al. Protein kinase C inhibitors: a patent review (2008-2009). *Expert Opin Ther Pat* 2013;23(10):1297-315. PubMed PMID: 23795914.

45. Soliman H, Gador A, Lu Y-H, Lin G, Bankar G, MacLeod KM. Diabetes-induced increased oxidative stress in cardiomyocytes is sustained by a positive feedback loop involving Rho-kinase and $\text{PKC}\beta_2$. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2012;303(8):989-1000. PubMed PMID: 22865386.

46. Somlyo AP, Somlyo AV. Ca^{2+} sensitivity of smooth muscle and nonmuscle myosin II: modulated by G proteins, kinases, and myosin phosphatase. *Physiol Rev* 2003;83:1325-58. PubMed PMID: 14506307.

47. Straub SV, Girouard H, Doetsch PE, Hannah RM, Wilkerson MK, Nelson MT. Regulation of intracerebral arteriolar tone by Kv channels: effects of glucose and PKC. *Am J Physiol Cell Physiol* 2009;297:788-96. PubMed PMID: 19605735.

48. Su W, Guo Z, Randall DC, Cassis L, Brown DR, Gong MC. Hypertension and disrupted blood pressure circadian rhythm in Type 2

diabetic db/db mice. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2008;295:1634-41. PubMed PMID: 18708447.

49. Swärd K, Miya M, Wilson DP, Deng JT, Susnjar M, Walsh MP. The role of RhoA and Rho-associated kinase in vascular smooth muscle contraction. *Curr Hypertens Rep* 2003;5(1):66-72. PubMed PMID: 12530938.

50. Uprichard SL. The therapeutic potential of RNA interference. *FEBS Lett* 2005;579:5996-6007.

51. Wang R, Wu Y, Tang G, Wu L, Hanna ST. Altered L-type Ca^{2+} channel currents in vascular smooth muscle cells from experimental diabetic rats. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2000;278:714-22.

52. White RE, Carrier GO. Vascular contraction induced by activation of membrane calcium ion channels enhanced in streptozotocin-diabetes. *J Pharmacol Exp Ther* 1990;253(3):1057-62. PubMed PMID: 1694242.

53. Xia P, Kramer RM, King GL. Identification of the mechanism for the inhibition of Na^+/K^+ -ATPase by hyperglycemia involving activation of protein kinase C and cytosolic phospholipase A₂. *J Clin Invest* 1995;96:733-40. PubMed Central PMCID: PMC185257.

54. Xie Z, Su W, Guo Z, Pang H, Post SR, Gong MC. Up-regulation of CPI-17 phosphorylation in diabetic vasculature and high glucose cultured vascular smooth muscle cells. *Cardiovasc Res* 2006;69:491-501. PubMed PMID: 16336954.

Надійшла до редколегії 25. 10.16

И. Кизуб, канд. биол. наук, О. Харченко, канд. биол. наук, А. Костюк, канд. биол. наук, Л. Остапченко, д-р биол. наук Киевский национальный университет имени Тараса Шевченка, Киев, Украина, К. Клименко, канд. биол. наук, А. Соловьев, д-р биол. наук ГУ "Институт фармакологии и токсикологии НАМН Украины", Киев, Украина

УЧАСТИЕ ПРОТЕИНАКИНАЗЫ С В МЕХАНИЗМАХ НАРУШЕНИЯ СОСУДИСТОГО ТОНУСА ПРИ САХАРНОМ ДИАБЕТЕ. ЧАСТЬ 4

Сахарный диабет (СД) сопровождается развитием нарушенных сосудистого тонуса. В развитии этих нарушений вовлечены регуляторный фермент протеинкиназа С (ПКС). Много данных свидетельствует о том, что сократительные ответы гладких мышц сосудов существенно повышены при СД и эндотелий-независимые механизмы, связанные с ПКС также вовлечены в этот процесс. Такими механизмами являются ПКС-опосредованное угнетение тока через Ca^{2+} -зависимые K^+ -каналы большой проводимости (BK_{Ca}) в гладкомышечных клетках (ГМК) сосудов и Ca^{2+} -сенситизация миофиламентов ГМК. ПКС является потенциальной терапевтической мишенью для лечения диабетических сосудистых нарушений. Среди ингибиторов ПКС уже существует несколько субстанций, в частности рубоксистерин, индолилмалеимид и его производные. Недавно изобретенный метод РНК-интерференции (РНКи) является важным инструментом для угнетения генов и также может быть использован для угнетения ПКС и устранения сосудистых осложнений при СД.

Ключевые слова: сахарный диабет, протеинкиназа С, сосудистый тонус, гладкие мышцы сосудов, Ca^{2+} -сенситизация, РНК-интерференция.

I. Kizub, PhD, O. Kharchenko, PhD, O. Kostyuk, PhD, L. Ostapchenko, DSc Taras Shevchenko National University of Kyiv, Ukraine, K. Klymenko, PhD, A. Soloviev, DSc State Institution "Institute of Pharmacology and Toxicology of NAMS of Ukraine", Kyiv, Ukraine

PROTEIN KINASE C PARTICIPATION IN MECHANISMS OF VASCULAR TONE ABNORMALITY IN DIABETES MELLITUS. PFRT 4

Diabetes mellitus (DM) is accompanying by vascular tone disorders development. Regulatory enzyme protein kinase C (PKC) is involved in mechanisms of these disorders development.

Numerous studies have demonstrated that contractile responses of vascular smooth muscle are enhanced in DM and endothelium-independent PKC-mediated mechanisms are involved in this process. Such mechanisms are PKC-mediated inhibition of Ca^{2+} activated K^+ channels (BK_{Ca}) in vascular smooth muscle cells (SMCs) and SMCs myofilaments Ca^{2+} sensitization. PKC is a potential therapeutic target for treating vascular diabetic complications. A few compounds among PKC inhibitors already exist, such as ruboxistaurin, indolyimaleimide and its derivatives. Recently discovered method of RNA-interference (RNAi) is an essential gene-silencing tool and can also be used for PKC inhibition and DM-associated vascular complications elimination.

Key words: diabetes mellitus, protein kinase C, vascular tone, vascular smooth muscle, Ca^{2+} sensitization, RNA-interference.

УДК 612.821:612 821.83

С. Федорчук, канд. биол. наук, Л. Чікіна, пров. інж., Т. Герасько, магістр, І. Зима, д-р биол. наук, С. Тукаєв, канд. биол. наук Київський національний університет імені Тараса Шевченка, Київ

СТАТИЧНІ ЕЛЕКТРИЧНІ ПОТЕНЦІАЛИ ЯК ПОКАЗНИКИ СТАНУ ОЧІКУВАННЯ ЗА УМОВ ФОРМУВАННЯ ЕМОЦІЙНОГО ВИГОРАННЯ У СТУДЕНТІВ

Статичні електричні потенціали (СТЕП) в біологічно активних зонах шкіри людини (БАЗ) відображають рівень фонові активності мозкових структур і рівень психічного стресу. Мета дослідження полягала в тому, щоб визначити характер розподілу СТЕП в симетричних біологічно активних зонах шкіри обличчя в стані очікування психологічного і нейрофізіологічного тестування за умов різного вихідного рівня емоційного вигорання у студентів. Отримані дані свідчать про те, що формування вигорання суттєво знижує рівень фонові емоційної напруги в стані очікування емоційно-значущої події, що може позначатися у порушенні адаптаційних можливостей і зниженні ефективності подальшої діяльності.

Ключові слова: статичні електричні потенціали (СТЕП), біологічно активні зони шкіри людини (БАЗ), рівень емоційного вигорання.

Вступ. Емоції, як відомо, виконують значущу регулюючу роль у формуванні цілеспрямованої поведінки

людини, як позитивну, так і негативну, що спонукає до глибшого вивчення стану психоемоційної сфери. Про-
© Федорчук С., Чікіна Л., Герасько Т., Зима І., Тукаєв С., 2016