

© Коллектив авторов, 2016
УДК 616.831-005.1:616-092.9

Воронков А.В., Мамлеев А.В.

Взаимосвязь развития эндотелиальной дисфункции и активности протеинкиназы C при ишемическом повреждении головного мозга

Пятигорский медико-фармацевтический институт — филиал ГБОУ ВПО ВолгГМУ Минздрава России, 357532, Ставропольский край, г.Пятигорск, пр. Калинина, д. 11

Ишемический инсульт — причина высокой смертности и инвалидизации населения во всем мире, тесно связан с дисфункцией эндотелия (ЭД). Регуляцию специфических функций эндотелия осуществляет, в основном, универсальный модулятор — оксид азота. В выработке оксида азота участвует ряд ферментов, но специфическим для эндотелия является эндотелиальная NO-синтаза (eNOS), нарушение регуляции которой наблюдается при ишемическом инсульте. Значительную роль в регуляции активности eNOS отводят протеинкиназе C (ПКС). В обзоре рассмотрены следующие процессы: взаимосвязь ЭД и оксида азота при ишемическом инсульте; особенности биологической активности оксида азота в зависимости от места синтеза и времени ишемического повреждения; регуляция активности eNOS с помощью ПКС; взаимосвязь между ЭД и активностью ПКС при оксидативном стрессе; основные сигнальные пути, включающие активацию eNOS и ПКС. Отмечено, что при развитии ЭД наблюдается повышенная активность ПКС, обсуждается перспективность поиска веществ с ингибирующим влиянием на активность ПКС для лечения большого числа сердечно-сосудистых заболеваний и ишемического инсульта в частности.

Ключевые слова: сердечно-сосудистые патологии, эндотелиальная функция, эндотелиальная дисфункция, эндотелиальная NO-синтаза, нейрональная NO-синтаза, индуцибельная NO-синтаза, оксид азота, эндотелиопротекторные препараты, ишемия головного мозга, протеинкиназа C, оксидативный стресс, вазодилатация, церебральный вазоспазм, микрососудистая проницаемость.

Для корреспонденции: Мамлеев Андрей Викторович, очный аспирант каф. фармакологии с курсом клинической фармакологии, преподаватель, e-mail: mamaev.ma00@mail.ru

Для цитирования: Воронков А.В., Мамлеев А.В. Взаимосвязь развития эндотелиальной дисфункции и активности протеинкиназы C при ишемическом повреждении головного мозга. *Патологическая физиология и экспериментальная терапия. 2016; 60(4): 134–142.*

Финансирование. Исследование не имело спонсорской поддержки.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила 20.02.2016

Voronkov A.V., Mamleev A.V.

Endothelial dysfunction and Protein kinase C activity development interrelation at ischemic injury of a brain

Pyatigorsk Medical and Pharmaceutical Institute — branch Medical University VolGGMU Russian Ministry of Health, Russia, 357532, Pyatigorsk, Kalinina Prospect, 11

The ischemic stroke is the reason of high mortality and population disability worldwide and it is closely connected with endothelium dysfunction (ED). The endothelium carries out regulation of specific functions, generally the universal modulator — nitrogen oxide. A number of enzymes participates in a production of nitric oxide, but specific for an endothelium is endothelial NO synthase (eNOS), which violation of regulation is observed at an ischemic stroke. Significant role in activity of eNOS regulation plays protein kinase C (PKC). In this review the following processes were investigated: ED and nitric oxide interrelation at an ischemic stroke; some features of biological activity of nitric oxide depending on a place of synthesis and on time of ischemic damage; eNOS activity regulation by means of PKC; interrelation between ED and PKC activity at oxidative stress; the main alarm ways including activation of eNOS and PKC which regulate microvascular permeability and a tone of vessels of a brain. Being guided by the carried-out analysis of theoretical data, it should be noted that at development of ED the PKC hyperactivity is observed, therefore, the search of the substances possessing inhibiting influence on activity of PKC for treatment of the majority of cardiovascular diseases and an ischemic stroke has become particularly important and perspective.

Keywords: cardiovascular pathologies, endothelial function, endothelial dysfunction, endothelial NO-synthase, neuronal NO-synthase, inducible NO-synthase, nitrogen oxide, endothelioprotective preparations, brain ischemia, protein kinase C,

an oxidative stress, vasodilatation, cerebral vasospasm, microvascular permeability.

For correspondence: Mамлеев Андрей Викторович, e-mail: mamaev.ma00@mail.ru

For citation: Voronkov A.V., Mамлеев A.V. Endothelial dysfunction and Protein kinase C activity development interrelation at ischemic injury of a brain. *Patologicheskaya Fiziologiya i Eksperimental'naya terapiya. (Pathological Physiology and Experimental Therapy, Russian Journal)*. 2016; 60 (4): 134–142. (in Russ.).

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Funding. The study had no sponsorship.

Финансирование. Исследование не имело спонсорской поддержки.

Information about authors:

Voronkov Andrey Vladislavovich — orcid.org/0000-0001-6638-6223

Mамлеев Андрей — orcid.org/0000-0001-9657-2246

Received 20.02.2016

Введение

Ишемический инсульт — причина высокой смертности и инвалидизации населения во всем мире, тесно связан с дисфункцией эндотелия, которая является ранним признаком и неблагоприятным прогностическим фактором постишемических и сердечно-сосудистых осложнений. В поиске терапевтических путей коррекции инсульта эндотелий сосудов можно рассматривать, как самостоятельную мишень терапевтического воздействия.

В регуляции специфических функций эндотелия: противовоспалительной, вазодилатационной, антитромботической и антипролиферативной участвует универсальный модулятор — эндогенный оксид азота. Ключевую роль в выработке оксида азота выполняет эндотелиальная NO-синтаза, нарушение регуляции которой можно наблюдать при многих патологических состояниях, в том числе и при ишемическом инсульте. Учитывая значительную роль в регуляции активности NOS протеинкиназы C, можно предположить, что фармакологическое воздействие на этот вид ферментов так же представляет собой научно-практический интерес.

Установлено, что активация протеинкиназы C может нарушать функцию эндотелия при ишемическом инсульте, вызывая как неспецифическое повреждение путем усиления свободнорадикальных процессов в эндотелиальных клетках, так и специфическое ингибирование активности eNOS за счет процессов фосфорилирования и дефосфорилирования, нарушения процессов транскрипции.

1. Эндотелиальная дисфункция при ишемии головного мозга. Роль оксида азота

Эндотелиальные клетки, расположенные на базальной мембране, обладают аутокринной, паракринной и эндокринной функцией, способствуют поддержанию баланса между процессами, участвующими в вазомоторных реакциях, пролиферации клеток, тромбообразованию и воспалению [1, 2].

Многие патогенетические факторы, в том числе оксидативный стресс [3, 4], могут нарушить работу эндотелия, сдвигая его основные функции в сторону вазоконстрикции, усиления процессов тромбообразования, воспаления, пролиферации и вызывая тем самым его дисфункцию.

Универсальным модулятором основных функций эндотелия является оксид азота, биологическая активность которого [5, 6] зависит от места его образования и от ферментов его синтезирующих [7, 8]. На сегодняшний день выделяют конститивные изоформы, т.е. изоформы NOS, которые постоянно продуцируют относительно небольшое количество оксида азота, их активность зависит от уровня кальция в клетке. В зависимости от тканей, в которых находятся конститивные изоформы NO-синтаз, выделяют эндотелиальную синтазу оксида азота (eNOS, которая отвечает за специфическую эндотелиопротекторную функцию) и нейрональную NOS (nNOS — нейроны коры больших полушарий (2%), в глутаматергических зернистых клетках, ГАМК-ергических корзинчатых клетках мозжечка, полосатом теле) [9]. Третья изоформа называется индуцибельной (iNOS), она широко распространена в макрофагах, астроцитах, микроглиальных клетках и ее активность не зависит от уровня кальция в цитоплазме. При активации индуцибельной синтазы образуется большое количество оксида азота, который может повреждать нейронные системы [10].

Механизм повреждающего действия оксида азота нервных клеток при ишемии головного мозга связывают с активацией глутаматных рецепторов. Вероятно, это происходит следующим образом: возбуждающие аминокислоты в синаптической щели вызывают гиперактивацию глутаматных NMDA-рецепторов, что способствует открытию Na^+ - и Ca^{2+} -каналов с последующим увеличением потока кальция в нервную клетку. Последний связывается с кальмодулином, который активирует NOS, катализирующую образование NO. В свою очередь, NO стимулирует гуанилатциклазу с дальнейшим синтезом цГМФ, запускающего различные внутрикле-

точные метаболические процессы. Кроме того, оксид азота при взаимодействии с супероксидом может образовывать токсичный вторичный радикал — пероксинитрит [8—10].

В патофизиологических механизмах нарушения мозгового кровообращения принимают участие все три изоформы — pNOS, eNOS и iNOS. Стоит отметить, что данные об изменениях активности изоферментов NOS, а, следовательно, и содержании NO в церебральных структурах во время ишемии достаточно противоречивы [8—10]. На начальных этапах ишемии, при окклюзии средней мозговой артерии продолжительностью 30 мин наблюдается повышение уровня оксида азота в 20 раз [11, 12]. Вероятнее всего это происходит за счет кальций-зависимого механизма и более выраженной активации pNOS, по сравнению с eNOS. Затем на протяжении 7 сут. наблюдается снижение активности pNOS и eNOS в тканях с пропорциональным уменьшением количества оксида азота [11, 12]. В отличие от своих конститутивных изоформ iNOS активируется начиная с 12 ч до 7 сут. [14]. Таким образом, можно говорить о цикличности и фазности изменения активности изоформ и уровней оксида азота в ишемизированном мозге.

Помимо изменения уровней оксида азота, высвобождение NO при острой церебральной ишемии может оказывать как отрицательное, так и положительное влияние на исход гипоксического воздействия. Так, повышение активности eNOS приводит к нейропротективному эффекту, вероятно, за счет церебральной вазодилатации, действию NO, ингибированию агрегации тромбоцитов и адгезии эндотелиальных лейкоцитов [8—10, 15]. Кроме того, эндотелиальная NOS участвует в ремоделировании сосудов и ангиогенезе [16, 17]. Согласно данным некоторых авторов [18] эндотелиальная NOS может также стимулировать нейрогенез.

С другой стороны, оксид азота, синтезируемый нейрональной синтазой, негативно влияет на выживаемость клеток и неврологический статус [19—21]. Также отсроченная активация индуцибельной синтазы, усугубляет течение ишемического повреждения [8, 22]. Токсичность оксида азота, синтезируемого в большом количестве iNOS, может быть следствием образования дисульфидов цистеина и глутатиона [23], формирования нитрозотиолов или нитрозилирования белков [24]. Негативное влияние может быть также обусловлено повышенным образованием свободнорадикальных продуктов; в комбинации с супероксидными радикалами NO образует токсический пероксинитрит, способствующий повреждению клеточных мембран, липидов, белка, ДНК и в целом клеток, что приводит к нейродегенеративным повреждениям [8]. Существенно также, что оксид азота может запускать непосредственно или через пероксинитрит запрограммированную клеточную гибель — апоптоз [20, 25].

Несмотря на то, что есть данные о нейротоксическом действии оксида азота, производимого индуцибельной синтазой в острой фазе инсульта, некоторые исследователи считают, что индуцибельный оксид азота повышает нейрогенез после ишемического воздействия в 1-е и 3-и сут. [26]. Роль индуцибельного оксида азота в восстановлении нервной ткани подтверждается с помощью применения ингибитора индуцибельной синтазы — аминогуанидина, приводящего к уменьшению постишемического нейрогенеза [27]. Нейрональная синтаза оксида азота, напротив, снижает интенсивность репарации нервных клеток на всех этапах ишемии [28—30]. Вероятно, имеется следующая взаимосвязь — при повышении активности iNOS уменьшается активность pNOS, и наоборот [30].

Также имеются данные, что оксид азота, синтезируемый индуцибельной NOS является ключевым фактором в процессах ишемического прекодиционирования [31, 32].

Таким образом, можно резюмировать следующие возможные подходы к терапевтической коррекции ишемического инсульта:

1) на начальных этапах ишемического повреждения целесообразно увеличивать активность eNOS, и, теоретически, iNOS;

2) на более поздних этапах ишемии и/или реперфузии, когда наблюдается выраженная активация iNOS, усугубляющая повреждение клеток, ее активность необходимо ограничивать;

3) нейрональную синтазу терапевтически выгодно блокировать как при острой, так и при хронической ишемии, а активность eNOS — повышать.

Учитывая универсальную и значительную роль eNOS в коррекции патологических процессов ишемического повреждения целесообразно рассмотреть механизмы ее регуляции. Регуляция всех изоферментов NOS может осуществляться многими внутриклеточными процессами, в том числе большую роль отводят процессам фосфорилирования/дефосфорилирования с помощью ряда протеинкиназ.

Фосфорилирование eNOS по-разному влияет на течение патологических процессов, в том числе при ишемическом инсульте, при котором активность eNOS снижена [33, 34].

По некоторым данным [33], фосфорилирование аминокислоты серина оксигеназного центра S116, фосфорилирование кальмодулинового тронина — T495 и дефосфорилирование редуктазного серина — S1177 приводит к снижению активности eNOS, что является фактором дисфункции эндотелия. Повышение фосфорилирования кальмодулинового T495 и дефосфорилирования редуктазного S1177 центров лежит в основе патогенетического процесса при ишемии головного мозга [33].

2. Эндотелиальная дисфункция и активность ПКС

Одним из перспективных направлений коррекции эндотелиальной функции следует рассматривать регуляцию eNOS с помощью протеинкиназа С (ПКС). ПКС усиливает фосфорилирование кальмодулинового T495 и дефосфолирование редуктазного S1177. Ингибирование ПКС приводит к увеличению активности eNOS [33, 35].

Данные о роли оксидативного стресса и ПКС в повреждении эндотелия приводят многие исследования [36—39]. Активация ПКС при ишемии/реперфузии может осуществляться как рецепторным, так и безрецепторными механизмами [40, 41].

Активация ПКС безрецепторным механизмом осуществляется с помощью активных форм кислорода (АФК). Один из механизмов связан с прямой модификацией АФК регуляторного домена ПКС, в результате чего увеличивается активность ПКС, зависящая от концентрации кальция и фосфолипидов. Второй механизм связан с повышением активности таких ферментов, как фосфолипаза С, фосфолипаза D и фосфолипаза A2, что приводит к увеличению содержания мощных активаторов ПКС (ИФ3, ДАГ, жирные кислоты, кальций). Третий механизм связан с увеличением фосфорилирования ПКС по остаткам Туг-512 и Туг-523. Возможно, это связано с активацией белков Src, относящихся к семейству белковых тирозинкиназ, которые представлены в различных клетках, не только в эндотелиальных [36].

Установлено, что основным окислителем является супероксидный радикал, а не перекись водорода и/или гидроксидный радикал. Это объясняется тем, что только супероксиддисмутаза (СОД), субстратом которой является супероксидный радикал, приводит к улучшению функции эндотелия (ЭФ). СОД защищает эндотелий за счет уменьшения образования супероксидного радикала и продуктов его конденсации, таких как пероксинитрит. Одним из возможных эндотелиопротекторных механизмов ингибирования ПКС (ингибитор хелеритрин) является уменьшение содержания супероксидного радикала, и, связанную с ним, утилизацию оксида азота [39].

Продолжая рассматривать связь оксидативного стресса с активностью ПКС нужно отметить, что СОД лишь частично защищает и восстанавливает эндотелиальную функцию, следовательно, есть и другие механизмы, опосредованные ПКС, в развитии ЭД после ишемической атаки [39].

Активация ПКС может осуществляться и рецептор-опосредованным механизмом. Доказана роль рецепторов эндотелина в постишемическом повреждении эндотелия, при блокаде которых (с помощью босентана) снижается количество свободных радикалов аналогично действию хелеритрина. Блокада рецепто-

ров эндотелина уменьшает в некоторой степени активность ПКС и связанную с ней повышенную продукцию свободных радикалов [42—44].

Таким образом, исходя из вышесказанного, наблюдается следующая последовательность событий, наблюдаемых при ЭД, вызванной ишемией: ишемия/реперфузия, активация ПКС как спонтанным (безрецепторным), так рецептор-опосредованным механизмом, увеличение продукции токсических свободных радикалов посредством ПКС, активация ПКС свободными радикалами и АФК и так далее.

Подобный патогенетический механизм представляет собой «порочный круг» активации ПКС, наблюдаемый при ЭД, который возможно прервать с помощью ингибиторов ПКС.

3. Взаимосвязь ПКС и eNOS в регуляции микрососудистой проницаемости

Одним из показателей нарушения функций эндотелия является нарушение проницаемости. На сегодняшний день рассматриваются различные внутриклеточные пути передачи информации, которые регулируют барьерную функцию эндотелия, и значительное количество данных свидетельствует о ключевой роли кальция, оксида азота и ПКС в этих процессах [45—47].

Рассматривают [45] 2 различных механизма регуляции микрососудистой проницаемости (рис. 1).

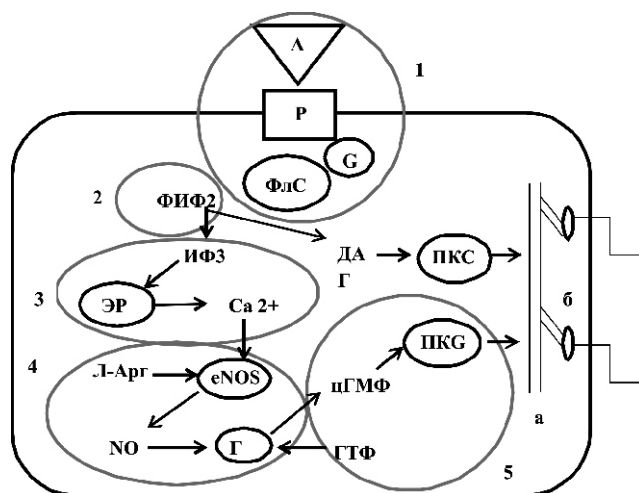


Рис. 1. Возможные пути регуляции сосудистой проницаемости. 1, 2, 3, 4, 5 — стадии; А — агонист рецепторов; Р — рецептор; G — G-белок; ФлС — фосфолипаза С; ФИФ2 — фосфатидилинозитол-4,5-дифосфат; ИФ3 — инозитол-1,4,5-три фосфат; Ca²⁺ — ионы кальция; eNOS — эндотелиальная NO-синтаза; Л-Арг — L-аргинин; NO — оксид азота; ГЦ — гуанилатциклаза; ЭР — эндоплазматический ретикулум; ДАГ — диацилглицерол; ГТФ — гуанозинтрифосфат; цГМФ — циклический гуанозинмонофосфат; ПКС — протеинкиназа С; ПКГ — протеинкиназа G; а — цитозольные/актинового микрофиламенты; б — белки сцепления; в — якорные (линкерные гликопротеиды).

Первый связан с активацией eNOS с помощью ионов кальция, что приводит к запуску механизма eNOS-NO-цГМФ-ПКС, играющего главную роль в увеличении транспорта воды и макромолекул через сосудистый эндотелий. Второй механизм включает активацию ПКС.

Начальные этапы активации обоих механизмов схожи и происходят в эндотелиальных клетках. Они начинаются с активации рецепторов (1 стадия) (например гистамина), связанных с G-белком. G-белок активирует фермент фосфолипазу C (ФЛС), которая (стадия 2) гидролизует фосфатидинозитол-4,5-дифосфат (ФИФ2) в результате чего образуется инозитол-1,4,5-три фосфат (ИФ3) и второе соединение — диацилглицерол (ДАГ). Далее пути регуляции сосудистой проницаемости расходятся. Для активирования механизма с участием eNOS в главной роли происходит следующий биохимический каскад: ИФ3 (стадия 3) мобилизует кальций из эндоплазматического ретикулума (ЭР), который, в свою очередь, является мощным активатором eNOS; затем eNOS (стадия 4) катализирует реакцию превращения л-аргинина в оксид азота (NO), последний в свою очередь повышает активность гуанилатциклазы (ГЦ); гуанилатциклаза (стадия 5) метаболизирует гуанозинтрифосфат (ГТФ) до циклического гуанозинмонофосфата (цГМФ), который активирует протеинкиназу G (ПКГ). ПКГ изменяет структуру белков эндотелиального цитоскелета, молекул межклеточных контактов и контактов клетка—межклеточное вещество.

Активация механизма, связанного с ПКС, начинается так же, как и в случае с системой eNOS-NO-гуанилатциклаза-цГМФ-ПКС, но ДАГ, который образуется на второй стадии, приводит к повышению активности ПКС. ПКС может регулировать проницаемость сосудистой стенки, воздействуя прямо на структурные эндотелиальные белки, или косвенно, путем модификации eNOS. Пути ПКС и ПКГ выполняют одинаковую роль в проницаемости микрососудов.

Известно, что активация пути, опосредованного через ПКС (активация без кальция характерна не для всех подтипов ПКС [35,51]), не требует повышения уровня кальция. Механизм eNOS-NO-гуанилатциклаза-цГМФ-ПКС связан с быстрым увеличением концентрации кальция, в отличие от системы ПКС [45].

Не все исследователи разделяют точку зрения, что активация ПКС ведет к повышению проницаемости сосудистой стенки [47—49]. Возможно, это связано с различной активностью отдельных изоформ ПКС и с использованием активаторов и ингибиторов ПКС разной специфичности.

Установлено [45], что ингибирование eNOS уменьшает сосудистую проницаемость, индуцированную активатором ПКС — ФМА, но частично, поэтому предполагается частичное влияние ПКС на продукцию оксида азота и регуляцию сосудистой проницаемости, а также наличие механизма, влияющего на проницаемость не связанного с высвобождением оксида азота.

При ЭД наблюдается повышенная активность ПКС, увеличение проницаемости и снижение активности eNOS [50]. Возможно, повышенная активация ПКС приводит к увеличению проницаемости, снижению активности eNOS. Считается, что терапевтически лучше ингибировать активность ПКС, но эта точка зрения требует дальнейших исследований.

4. ПКС и церебральный вазоспазм

Повышенный тонус мозговых сосудов может наблюдаться при разных патологических состояниях — при нарушении мозгового кровообращения, ишемическом и гемморрагическом инсультах. Выделяют два возможных механизма развития церебрального вазоспазма [51]. На первых этапах преобладает классический механизм мышечного сокращения, суть которого сводится к повышению фосфорилирования легких цепей миозина (ЛЦМ) с помощью киназы легких цепей миозина (КЛЦМ), активность которой в значительной степени зависит от концентрации ионов кальция. Однако при уменьшении фосфорилирования легких цепей миозина с помощью киназы и при снижении уровня кальция наблюдается поддержание вазоспазма. Поэтому рассматривают другой механизм спазма сосудов, который участвует в отсроченном и длительном вазоспазме, и значительную роль в этом процессе этом отводят ПКС [51—54].

В миоцитах гладких мышц основная роль ПКС состоит в повышении чувствительности микрофиламентов к ионам кальция, что приводит к вазоконстрикции [53]. Кроме того, ПКС фосфорилирует потенциал-зависимые кальциевые каналы, ингибируют калиевые, связывает многие другие внутриклеточные сигнальные пути включающие киназу легких цепей миозина, систему оксида азота, систему внутриклеточного кальциевого депо, тирозинкиназу и ее субстраты, такие, как митогенактивируемая протеинкиназа (МАПК) и т.д. Таким образом, ПКС имеет мультифакторный спектр влияния на многие процессы, в том числе процессы, приводящие к церебральному вазоспазму [51, 52, 54].

В связи с этим необходимо рассмотреть механизм активации ПКС в гладкомышечных клетках (ГМК) сосудов. Процесс активации ПКС в ГМК аналогичен таковому в эндотелиальных и включает следующую последовательность: рецептор, связанный

с G-белком — Фосфолипаза C — ФИФ2 — ДАГ — ПКС. Тем более доказана центральная роль фосфолипазы C, ДАГ и ПКС в повышенной чувствительности миофиламентов к кальцию именно в поддержании тонуса мозговых сосудов ПКС [51]. Повышенный тонус мозговых сосудов обусловлен активацией ПКС в большей степени, чем коронарных, брыжеечных и бедренных артериях [55].

После активации ПКС и перемещению ее к мембране происходит фосфорилирование белков. Процесс усиления фосфорилирования легких цепей миозина (ЛЦМ20) и увеличения кальция быстро затухает, а длительное сокращение поддерживается благодаря фосфорилированию кальдесмона, десмина и др., увеличению уровня фосфатаз (1 и 2а), также приводящие к увеличению фосфорилирования кальдесмона, десмина,

кальпаина, киназы ЛЦМ. Все эти процессы приводят к сенсбилизации сократительных элементов к ионам кальция [51, 54]. К аналогичным данным приводят исследования с использованием активатора ПКС — ФМА. Ключевую роль выполняет Rho-киназа, которая ингибирует фосфатазу легких цепей миозина, в результате чего не происходит дефосфорилирования миозина, что опять же приводит к мышечному сокращению [56, 57]. Кроме того Rho-киназа повышает экспрессию пре-проендотелина, способствуя тем самым развитию ряда сосудистых заболеваний [58, 59].

Помимо этих механизмов поддержания сосудистого тонуса активация ПКС приводит к ингибированию Ca^{2+} -зависимых- K^{+} каналов, что удлиняет потенциал действия, а, следовательно, и время сокращения [60].

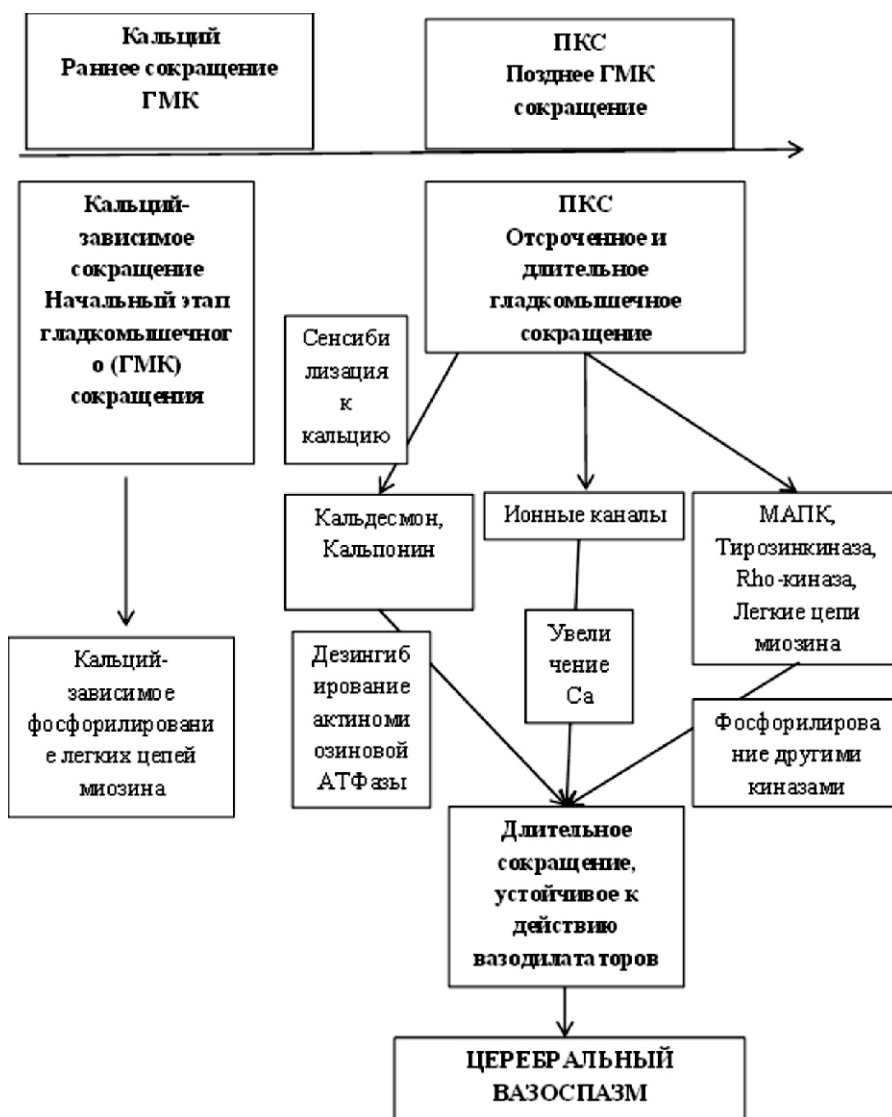


Рис. 2. Схема основных механизмов развития церебрального вазоспазма.

Предполагают также, что ПКС играет ключевую роль в качестве фактора, связывающего несколько других сигнальных путей с участием кальмодулина, киназы легких цепей миозина, оксида азота, внутриклеточного кальция, тирозинкиназы и ее субстратов, таких, как митогенактивируемая протеинкиназа (МАПК) [51, 54, 61], что в сумме поддерживает длительное сужение просвета сосудов.

Рассматривая повышенный тонус мозговых сосудов и ЭД, необходимо отметить роль оксида азота.

Спазм сосудов может быть вызван дисбалансом между факторами релаксации (простаглицлин и др. эйкозаноиды, оксид азота) и констрикции (эндотелин). Последний действует через ПКС, а ПКС регулирует его выработку [41, 44, 54, 62]. Оксид азота — основной фактор релаксации — увеличивает цГМФ в цитозоле, который приводит к расслаблению сосудов и противостоит сократительным агентам, в том числе эндотелину [59]. Системы оксида азота-цГМФ и ПКС задействованы в патогенезе церебрального вазоспазма, и считается, что система оксид азота-цГМФ выполняет отрицательную обратную связь, т.е. уменьшает вазоконстрикцию, вызванную сократительными факторами, в том числе, вызванную активностью ПКС. Субарахноидальное кровоизлияние (САК) нарушает механизм отрицательной обратной связи, что приводит к ЭД, следовательно длительной вазоконстрикции [54].

Исследования показали, что если развился спазм сосудов головного мозга, то донаторы оксида азота не в состоянии вернуть тонус сосудов в физиологическое состояние. Вазоспазм, вызванный с помощью активатора ПКС — форболового эфира, не регулируется цАМФ, при этом донаторы оксида азота не приводят к активации NO-гуанилатциклаза-цГМФ-ПКК, тогда как аналог цГМФ приводил к ослаблению тонуса сосудов [51].

Таким образом, в церебральном вазоспазме играют роль как кальций-зависимые так и кальций-независимые механизмы (рис. 2) [51], с учетом этого можно предположить, что блокируя деятельность ПКС, возможно уменьшить вазоспазм мозговых сосудов, к развитию которого привели различные механизмы.

Заключение

Рассмотрев взаимосвязь активности ПКС с развитием ЭД через ряд таких патофизиологических процессов, как оксидативный стресс, микрососудистая проницаемость, сосудистый вазоспазм, нельзя не отметить большую общебиологическую роль активности ПКС и, следовательно, весьма перспективным становится поиск веществ обладающих ингибирующим влиянием на активность ПКС для лечения большинства сердечно-сосудистых заболеваний и ишемического инсульта в частности.

References

1. Treshchinskaya M.A. Teoreticheskie i prakticheskie aspekty primeneniya L-arginina s cel'yu profilaktiki cerebrovaskulyarnoj patologii. *Ukrainskij medicinskij zhurnal*. 2011; 5: 97. (in Russian)
2. Perez-Vizcaino F., Duarte J., Andriantsitohaina R. Endothelial function and cardiovascular disease: effects of quercetin and wine polyphenols. *Free Radic. Res.* 2006; 40: 1054-65.
3. Эндотелиопротекторы — новый класс фармакологических препаратов / I.N. Tyurenkov, A.V. Voronkov, A.A. Sliechanski dr. *Vestnik RAMN*. 2012; 7: 54-7. (in Russian)
4. Markov Kh.M. Oksidativny`i` stress i disfunktsiia e`ndoteliia. *Patologicheskaya fiziologiya i eksperimental'naya terapiya*. 2005; Vol. 4: P. 5-9.
5. Endothelium-derived relaxing factor produced and released from artery and vein is nitric oxide / L.J. Ignarro, G.M. Buga, K.S. Wood et al. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 1987; Vol. 84: P. 9265-9.
6. Palmer R.M., Ferrige A.G., Moncada S. Nitric oxide release accounts for the biological activity of endothelium-derived relaxing factor. *Nature*. 1987; Vol. 327: P. 524-6.
7. Bauer V, Sotnikova R. Nitric oxide—the endothelium-derived relaxing factor and its role in endothelial functions. *Gen. Physiol. Biophys.* 2010; 29(4): 319-40.
8. Nechipurenko N.I. Rol' oksida azota pri ishemii golovnogogo mozga. *Medicinskie novosti*. 2004; 1: 7-10. (in Russian)
9. Nechipurenko N.I., Pashkovskaya I.D., Musienko Yu.I. Osnovnye patofiziologicheskie mekhanizmy ishemii golovnogogo mozga. *Medicinskie novosti*. 2008; 1: 7-13.
10. Terpolilli N.A., Moskowitz M.A., Plesnila N. Nitric oxide: considerations for the treatment of ischemic stroke. *Cereb. Blood Flow Metab.* 2012; 32(7): 1332-46.
11. Mohammadi M.T., Shid-Moosavi S.M., Dehghani G.A. Contribution of nitric oxide synthase (NOS) in blood-brain barrier disruption during acute focal cerebral ischemia in normal rat. *Pathophysiology*. 2012; 19(1): 13-20.
12. Possible involvement of NO/NOS signaling in hippocampal amyloid-beta production induced by transient focal cerebral ischemia in aged rats / S. Li, W. Wang, C. Wang et al. *Neurosci. Lett.* 2010; 470(2): 106-10.
13. Damage to neurons and oligodendrocytes in the hippocampal CA1 sector after transient focal ischemia in rats / H. Uchida, Y. Fujita, M. Matsueda et al. *Cell Mol. Neurobiol.* 2010; 30(7): 1125-34.
14. Time course of expression of three nitric oxide synthase isoforms after transient middle cerebral artery occlusion in rats / M. Niwa, S. Inao, M. Takayasu et al. *Neurol. Med. Chir. (Tokyo)*. 2001; Vol. 41: P. 63-72.
15. Targeting eNOS for stroke protection / M. Endres, U. Laufs, J.K. Liao et al. *Trends Neurosci.* 2004; 27(5): 283-9.
16. Vascular endothelial growth factor/vascular permeability factor enhances vascular permeability via nitric oxide and prostacyclin / T. Murohara, J.R. Horowitz, M. Silver et al. *Circulation*. 1998; Vol. 97: P. 99-107.
17. Essential role of endothelial nitric oxide synthase for mobilization of stem and progenitor cells / A. Aicher, C. Heeschen, C. Mildner-Rihm et al. *Nat. Med.* 2003; 9(11): 1370-6.
18. Differential effect of endothelial nitric oxide synthase (NOS-III) on the regulation of adult neurogenesis and behavior / A. Reif, A. Schmitt, S. Fritzen et al. *Eur. J. Neurosci.* 2004; Vol. 20: P. 885-95.

19. Ghrelin suppresses inflammation and neuronal nitric oxide synthase in focal cerebral ischemia via the vagus nerve / C. Cheyuo, R. Wu, M. Zhou et al. *Shock*. 2011; 35(3): 258-65.
20. Influence of duration of focal cerebral ischemia and neuronal nitric oxide synthase on translocation of apoptosis-inducing factor to the nucleus / X. Li, M. Nemoto, Z. Xu et al. *Neuroscience*. 2007; Vol. 144(1): 56-65.
21. Inducible nitric oxide synthase appears and is co-expressed with the neuronal isoform in interneurons of the rat hippocampus after transient ischemia induced by middle cerebral artery occlusion / L. Corsani, E. Bizzoco, F. Pedata et al. *Exp. Neurol*. 2008; 211(2): 433-40.
22. Zhao X., Ross M.E., Iadecola C. L-Arginine increases ischemic injury in wild-type mice but not in iNOS deficient mice. *Brain Res*. 2003; Vol. 966: P.308-11.
23. Cohen R.A., Adachi T. Nitric-oxide-induced vasodilatation: regulation by physiologic s-glutathiolation and pathologic oxidation of the sarcoplasmic endoplasmic reticulum calcium ATPase. *Trends Cardiovasc. Med*. 2006; Vol. 16: P. 109-14.
24. Nitric oxide regulates exocytosis by S-nitrosylation of N-ethylmaleimide-sensitive factor / K. Matsushita, C.N. Morrell, B. Cambien et al. *Cell*. 2003; Vol. 115: P. 139-50.
25. The critical role of calpain versus caspase activation in excitotoxic injury induced by nitric oxide / C. Volbracht, B.T. Chua, C.P. Ng et al. *J. Neurochem*. 2005; 93(5): 1280-92.
26. Distribution of inducible nitric oxide synthase and cell proliferation in rat brain after transient middle cerebral artery occlusion / Y. Sehara, T. Hayashi, K. Deguchi et al. *Brain Res*. 2006; Vol. 1093: P. 190-7.
27. Expression of inducible nitric oxide synthase after focal cerebral ischemia stimulates neurogenesis in the adult rodent dentate gyrus / D.Y. Zhu, S.H. Liu, H.S. Sun et al. *J. Neurosci*. 2003; Vol. 23: P. 223-9.
28. Nitric oxide negatively regulates mammalian adult neurogenesis / M.A. Packer, Y. Stasiv, A. Benraiss et al. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 2003; Vol. 100: P. 9566-71.
29. Nitric oxide is a physiological inhibitor of neurogenesis in the adult mouse subventricular zone and olfactory bulb / B. Moreno-Lopez, C. Romero-Grimaldi, J. A. Noval et al. *J. Neurosci*. 2004; Vol. 24: P. 85-95.
30. Reduced neuronal nitric oxide synthase is involved in ischemia-induced hippocampal neurogenesis by upregulating inducible nitric oxide synthase expression / C.X. Luo, X.J. Zhu, Q.G. Zhou et al. *J. Neurochem*. 2007; Vol. 103: P. 1872-82.
31. Inducible nitric-oxide synthase is an important contributor to prolonged protective effects of ischemic preconditioning in the mouse kidney / K.M. Park, J.Y. Byun, C. Kramers et al. *J. BiolChem*. 2003; Vol. 278: P. 27256-66.
32. Obligatory role of inducible nitric oxide synthase in ischemic preconditioning / S. Cho, E. M. Park, P. Zhou et al. *J. Cereb. Blood Flow Metab*. 2005; Vol. 25: P. 493-501
33. Kolluru G.K., Siamwala J.H., Chatterjee S. eNOS phosphorylation in health and disease. *Biochimie*. 2010; Vol. 92. P. 1186-98.
34. Modification of endothelial no synthase through protein phosphorylation after forebrain cerebral ischemia/reperfusion / K. Osuka, Y. Watanabe, N. Usuda et al. *Stroke*. 2004; Vol. 35: P. 2582.
35. Voronkov A.V., Glushko A.A. Novaya matematicheskaya model' dlya prognozirovaniya ehndotelioprotektoinoj aktivnosti veshchestv na osnove molekulyarnogo dokinga. *Voprosy biologicheskoy, meditsinskoy i farmatsevticheskoy khimii*. 2013; 3: 42-7.
36. Lum H., Roebuck K.A. Oxidant stress and endothelial cell dysfunction. *Am. J. Physiol. Cell Physiol*. 2001; Vol. 280. P. 719-41.
37. Fisher M. Injuries to the vascular endothelium: vascular wall and endothelial dysfunction. *Rev. Neurol. Dis*. 2008; Vol. 5. Suppl. 1: P. 4-11.
38. Oxidative stress in diabetes-induced endothelial dysfunction involvement of nitric oxide and protein kinase C / F. Pricci, G. Leto, L. Amadio et al. *Free Radic. Biol. Med*. 2003; 35(6): 683-94.
39. Maczewski M., Beresewicz A. The Role of Endothelin, Protein Kinase C and Free Radicals in the Mechanism of the Post-ischemic Endothelial Dysfunction in Guinea-pig Hearts. *J Molecular and Cellular Cardiology*. 2000; Vol. 32: P. 297-310.
40. Seal J. B., Gewertz B. L. Vascular dysfunction in ischemia-reperfusion injury. *Ann. Vasc. Surg*. 2005; Vol. 19(4). P. 572-84.
41. Fisher M. Injuries to the vascular endothelium: vascular wall and endothelial dysfunction. *Rev. Neurol. Dis*. 2008; Vol. 5 Suppl. 1. — P. 4-11.
42. Nitric oxide mediates protective effect of endothelin receptor antagonism during myocardial ischemia and reperfusion / A. T. Gonon, D. Erbas, A. Broijersens et al. *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol*. 2004; 286(5): 1767-74.
43. Cardioprotective effect of an endothelin receptor antagonist during ischaemia/reperfusion in the severely atherosclerotic mouse heart / A. T. Gonon, A. Bulhak, A. Broijersens et al. *Br. J. Pharmacol*. 2005; 144(6): 860-6.
44. Coucha M., Li W., Ergul A. The effect of endothelin receptor A antagonism on basilar artery endothelium-dependent relaxation after ischemic stroke. *Life Sci*. 2012; 91(13-14): 676-80.
45. Huang Q., Yuan Y. Interaction of PKC and NOS in signal transduction of microvascular hyperpermeability. *Am. J. Physiol*. 1997; Vol. 273(Heart Circ. Physiol. 42). P. 2442-51.
46. Yuan S.Y. Protein kinase signaling in the modulation of microvascular permeability. *Vascul. Pharmacol*. 2002; 39(4-5): 213-23.
47. Divergence of Angiogenic and Vascular Permeability Signaling by VEGF Inhibition of Protein Kinase C Suppresses VEGF-Induced Angiogenesis, but Promotes VEGF-Induced, NO-Dependent Vascular Permeability / I. Spyridopoulos, C. Luedemann, D. Chen et al. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol*. 2002; Vol. 22: P. 901-6.
48. Phosphorylation of Thr495 regulates Ca/calmodulin-dependent endothelial nitric oxide synthase activity / I. Fleming, B. Fisslthaler, S. Dimmeler et al. *Circ Res*. 2001; Vol. 88: P. 68-75.
49. Simultaneous activation of several second messengers in hypoxia-induced hyperpermeability of brain derived endothelial cells / S. Fischer, M. Wiesnet, H. H. Marti et al. *Cell Physiol*. 2004; 198(3): 359-69.
50. Dang L., Seale J.P., Qu X. High glucose-induced human umbilical vein endothelial cell hyperpermeability is dependent on protein kinase C activation and independent of the Ca²⁺-nitric oxide signalling pathway. *Clin. Exp. Pharmacol. Physiol*. 2005; 32(9): 771-6.
51. Laher I., Zhang J.H. Protein Kinase C and Cerebral Vasospasm. *J. Cerebral Blood Flow and Metabolism*. 2001; Vol. 21: P. 887-906.

52. Tani E., Matsumoto T. Continuous elevation of intracellular Ca^{2+} is essential for the development of cerebral vasospasm. *Curr. Vasc. Pharmacol.* 2004; 2(1): 13-21.
53. Walsh M.P., Cole W.C. The role of actin filament dynamics in the myogenic response of cerebral resistance arteries. *J. Cereb. Blood Flow Metab.* 2013; 33(1): 1-12.
54. Nishizawa S. Roles of signal transduction mechanisms in cerebral vasospasm following subarachnoid hemorrhage: overview. *Acta. Neurochir. Suppl.* 2011; 110(Pt 1): 27-30.
55. Cerebrovascular selectivity and vasospasmodic action of the novel calcium antagonist (\pm)-(E)-1-(3-Fluoro-6,11-dihydrodibenz [b,e] oxepin-11-yl)-4-(3-phenyl-2-propenyl)- piperazine dimaleate in isolated cerebral arteries of the rabbit and dog / H. Minato, M. Hashizume, Y. Masuda et al. *Drug Res.* 1997; Vol. 47: P. 339-46.
56. PKC and Rho in vascular smooth muscle: activation by BOXes and SAH CSF / G.J. Pyne-Geithman, S.G. Nair, D.N. Caudell et al. *Front Biosci.* 2008; Vol. 13: P. 1526-34.
57. Interactive role of protein kinase C-delta with rho-kinase in the development of cerebral vasospasm in a canine two-hemorrhage model / K. Obara, S. Nishizawa, M. Koide et al. *J. Vasc. Res.* 2005; 42(1): 67-76.
58. Involvement of Rho GTPase in the transcriptional inhibition of preendothelin-1 gene expression by simvastatin in vascular endothelial cells / O. Hernandez-Perera, D. Perez-Sala, E. Soria et al. *Circ. Res.* 2000; Vol. 87: P. 616-22.
59. Alteration of basilar artery rho-kinase and soluble guanylylcyclase protein expression in a rat model of cerebral vasospasm following subarachnoid hemorrhage / C.J. Wang, P.Y. Lee, B.N. Wu et al. *Biomed Res. Int.* 2014; Vol. 531: P. 508.
60. Taguchi K., Kaneko K., Kubo T. Protein kinase C modulates Ca^{2+} -activated K^{+} channels in cultured rat mesenteric artery smooth muscle cells. *Biol. Pharm. Bull.* 2000; 23(12): 1450-4.
61. Thin and thick filament regulation of contractility in experimental cerebral vasospasm / I. Kim, B. Leinweber, M. Morgalla et al. *Neurosurgery.* 2000; Vol. 46: P. 440-6.
62. Endothelin-1 initiates the development of vasospasm after subarachnoid hemorrhage through protein kinase C activation, but does not contribute to prolonged vasospasm / S. Nishizawa, D. Chen, T. Yokoyama et al. *Acta. Neurochir.* (Wien). 2000; Vol. 142: P. 1409-15.

Сведения об авторах:

Воронков Андрей Владиславович, зав. каф. фармакологии с курсом клинической фармакологии, доктор мед. наук, доцент, e-mail: a.v.voronkov@rmedpharm.ru