

SISTEMUL DE SEMNALIZARE INTRACELULARĂ DEPENDENT DE PROTEIN KINAZA C – PARTICULARITĂȚI LA NIVELUL MIOMETRULUI

A.A. Tica*, Corina Voinea**, V.J. Tica***, C.C. Georgescu*

REZUMAT

Protein kinaza C (PKC) este capabilă să fosforileze un număr mare de proteine celulare, pe resturi de serină sau treonină. Articolul de față, alături de caracterizarea generală a enzimei, se referă, în special, la particularitățile acesteia de la nivelul celulei musculare netede miometriale, cu precădere implicațiile sistemului de semnalizare dependent în procesul contractil. Sunt menționate și alte procese biologice, în care intervine PKC: creșterea și multiplicarea celulară, stabilizarea citoscheletului de actină etc.

Cuvinte cheie: protein kinaza C, semnalizare intracelulară, celulă musculară netedă miometrială, contracție

ABSTRACT

Intracellular signalization system dependent by the protein kinase C

Protein kinase C (PKC) is responsible for the phosphorylation of a very large number of cellular proteins, on serine or threonine amino acids. This article presents the general properties of the enzyme, but is focused on the particularities of the myometrial isoforms, with a great mean on their implications in contraction. There are mentioned, also, the roles of PKC in other internal signal systems, including the cells growth and multiplication, stabilization of the actinic cytoskeleton etc.

Key words: protein kinase C, intracellular signalization, myometrial smooth muscle cell, contraction

PROTEIN KINAZA C

Protein kinaza C (PKC) reprezintă o serin/treonin kinază, ea catalizând fosforilarea unor resturi de serină și/sau treonină, aparținând unui număr mare de proteine celulare.

Ca o consecință a vastității structurilor cu care interacționează, enzima intervine într-o serie largă de procese biologice, incluzând mecanisme de depolarizare membranară, modulare a contractilității (în sens pozitiv sau negativ), de creștere și multiplicare celulară, de stabilizare a citoscheletului de actină etc.

STRUCTURĂ

Din punct de vedere al alcătuirii enzima prezintă:

- domeniile C_1 și C_2 – cu rol în aderarea la membrana celulară și
- un centru catalitic.

Domeniul C_1 are în alcătuirea sa câteva seturi repetitive de subdomenii C_{1A} și C_{1B} , bogate în resturi de cisteină⁽³¹⁾.

La nivelul fiecăruia dintre aceste subdomenii există situații de fixare pentru diacil glicerol⁽¹¹⁾ (vezi mai jos).

PKC nu prezintă domenii de tip SH_2 sau SH_3 (*Src* homology domains 2/3)⁽¹⁵⁾, ceea ce o face incapabilă să interacționeze direct cu unele structuri celulare, cum ar fi receptorii cu activitate tirozin kinazică, kinaza focarelor de adeziune (*focal adhesion kinase* – FAK), fosfatidil inozitol 3-kinaza (PI3K) etc.

Dar, datorită faptului că în stare “bazală”, enzima suferă un proces de fosforilare autoindus pe serinele 661 și 657, ea devine aptă să fixeze o proteină cu rol de adaptor – de tip

Grb_2 , prin intermediul căreia se va putea cupla cu structuri de tipul celor menționate mai sus⁽¹⁵⁾.

Există mai multe tipuri de PKC^(22,32,35):

- PKCalpha (PKC_α),
- PKCbeta (PKC_β), cu două subtipuri – beta I și beta II,
- PKCgamma (PKC_γ),
- PKCdelta (PKC_δ),
- PKCepsilon (PKC_ε),
- PKCmiu (PKC_μ),
- PKClambda (PKC_λ),
- PKCxi (PKC_ξ) și
- PKCzeta (PKC_ζ).

La nivel uterin au fost identificate izoformele: alpha, betaI și betaII, delta, epsilon și zeta⁽⁹⁾.

Toate acestea pot fi stimulate de diacil glicerolul rezultat prin activitatea diferitelor tipuri de fosfolipază C (PLC) și inițiază, în mare măsură, aceleași căi de semnalizare intracelulară.

Totuși, există anumite caractere particulare:

- PKCalpha este stimulată, în special, de tirozin kinazele de tip *Src*, activate de receptorii cuplați cu proteine G (RCPG)⁽¹⁵⁾, receptori citokinici sau tirozin kinazici (ai factorilor de creștere), fiind implicată în mitogeneză⁽⁸⁾. De asemenea, este activată și de RhoA, situație în care intervine în stabilitatea citoscheletului de actină⁽³²⁾.
- PKCbeta este fosforilată de tirozin kinaze de tip *Src*⁽¹⁵⁾, transmitând astfel semnal de tip mitogen. Activează fosfolipaza A_2 (PLA₂)⁽²²⁾, cu generarea de acid arahidonic, precursor al eicosanoizilor – cu efect contractil.
- PKCdelta este stimulată, mai ales, de DAG, rezul-

*A.A. Tica, C.C. Georgescu - Disciplina de Farmacologie, Facultatea de medicină, U.M.F. – Craiova

**Corina Voinea - Reprezentant medical ASTRA-ZENECA

***V.J. Tica - Disciplina de Obstetrică-Ginecologie, Facultatea de Medicină, Universitatea “Ovidius” – Constanța

tat prin acțiunea PLC_β, intervenind în generarea contracției^(9,7).

- **PKCεpsilon** este activată, în special, de PLC_β, intervenind în mitogeneză⁽²⁹⁾. PKCεpsilon mai este stimulată de Rho⁽³⁵⁾ și poate activa *kinaza focarelor de adeziune* (*focal adhesion kinase* – FAK)⁽¹²⁾, ambele acțiuni fiind legate de efectul de stabilizare asupra citoscheletului de actină celular. De asemenea, ea activează și *adenilat ciclaza* (AC)⁽²²⁾, principala enzimă implicată în semnalizarea relaxării musculare în fibra netedă uterină.
- **PKC zeta** este stimulată de DAG, rezultat prin acțiunea PLC_β, intervenind în generarea contracției^(7,9). De asemenea, are rol în semnalizarea stabilizării citoscheletului celular⁽⁷⁾.

MECANISME DE ACTIVARE

Există două mecanisme prin care se poate activa PKC:

- dependent de diacil glicerol și
- independent de diacil glicerol.

DEPENDENT DE DIACIL GLICEROL

Diacil glicerolul – DAG, rezultă la nivelul membranei celulare, alături de inozitol (1,4,5) trifosfat (IP₃), în urma hidrolizei fosfatidil inozitol (4,5) difosfatului (PIP₂) sub acțiunea *fosfolipazei C* (PLC) (Fig. 1.I).

Secundar formării DAG, printr-un mecanism necunoscut, PKC este translocată pe fața internă a membranei celulare, aderând la structurile fosfolipidice ale acesteia, prin domeniile D₁ și D₂. În urma interacțiunii cu plasmalema, enzima se decuplează de o structură cu rol inhibitor, (cu care se află, în mod normal, asociată) și, printr-o modificare a conformației spațiale, eliberează situsul de fixare pentru DAG⁽¹¹⁾.

Aceasta reprezintă principala cale de activare a PKC.

Apoi, enzima va migra în citoplasmă și va fosforila diferite structuri proteice.

I.Calea dependentă de diacil glicerol (DAG) – stimularea unui **receptor membranar (R)** de tip *tirozin kinazic* (RTK) sau cuplat cu proteine G (RCPG) activează *fosfolipaza C* (PLC). Aceasta va hidroliza **fosfatidil inozitol (4,5) di-**

fosfatul (PIP₂) la **inozitol (1,4,5) trifosfat (IP₃)** și **DAG**. Ultimul va activa *protein kinaza C* (PKC).

II.Calea DAG-independentă – PKC poate fi activată de: **proteinele G (G)** cuplate cu receptori membranari (RCPG), **RTK**, prin intermediul proteinei adaptor Grb₂, *tirozin kinazele Src* (**Src**) și de *fosfatidil inozitol 3-kinaza* (**PI3K**), ambele, de asemenea, prin intermediul proteinei Grb₂. **RhoA** activează și ea PKC. De remarcat că PKC activată este capabilă să fosforileze și, implicit, să activeze, RTK, proteinele G, Src și PI3K. (MC = membrană celulară; CIT = citoplasmă)

Au fost identificate cinci izoenzime de PLC: beta, gamma, delta, epsilon și zeta, dintre care numai primele trei sunt prezente la nivelul miometrului.

Este interesant faptul că, deși folosesc același substrat – PIP₂ și generează aceeași produși – DAG și IP₃, efectele intracelulare rezultate sunt diferite.

Implicit și *protein kinazele C* activate de diacil glicerolii rezultați prin activitatea diferitelor forme de PLC, vor genera efecte distincte.

Acest fapt pare într-adevăr paradoxal în condițiile în care nu există o selectivitate între subtipurile de PLC și cele de PKC, toate PLC pot induce (prin intermediul formării de DAG) activarea tuturor formelor de PKC.

Dacă se ține cont și de capacitatea aceluiași tip de PKC de a activa diverse sisteme intracelulare, se conturează imaginea extraordinarei complexități a sistemului PKC-dependent.

INDEPENDENT DE DIACIL GLICEROL

Există mai multe căi de activare a PKC, care nu implică formarea DAG (Fig. 1.II.):

- proteinele G, prin subunitatea α_{q11}⁽²⁾,
- receptorii *tirozin kinazici* – ai factorilor de creștere, după cuplarea cu o proteină adaptor, de tipul Grb₂⁽¹⁵⁾,
- *tirozin kinazele Src*^(4,30),
- *fosfatidil inozitol 3-kinaza* (PI3K), de asemenea prin intermediul Grb₂,
- proteinele RhoA⁽³²⁾.

Este de remarcat că interacțiunile, în primele patru cazuri, sunt bidirecționale, în sensul că și PKC activată poate fosforila și activa structurile respective (Fig. 1.II.).

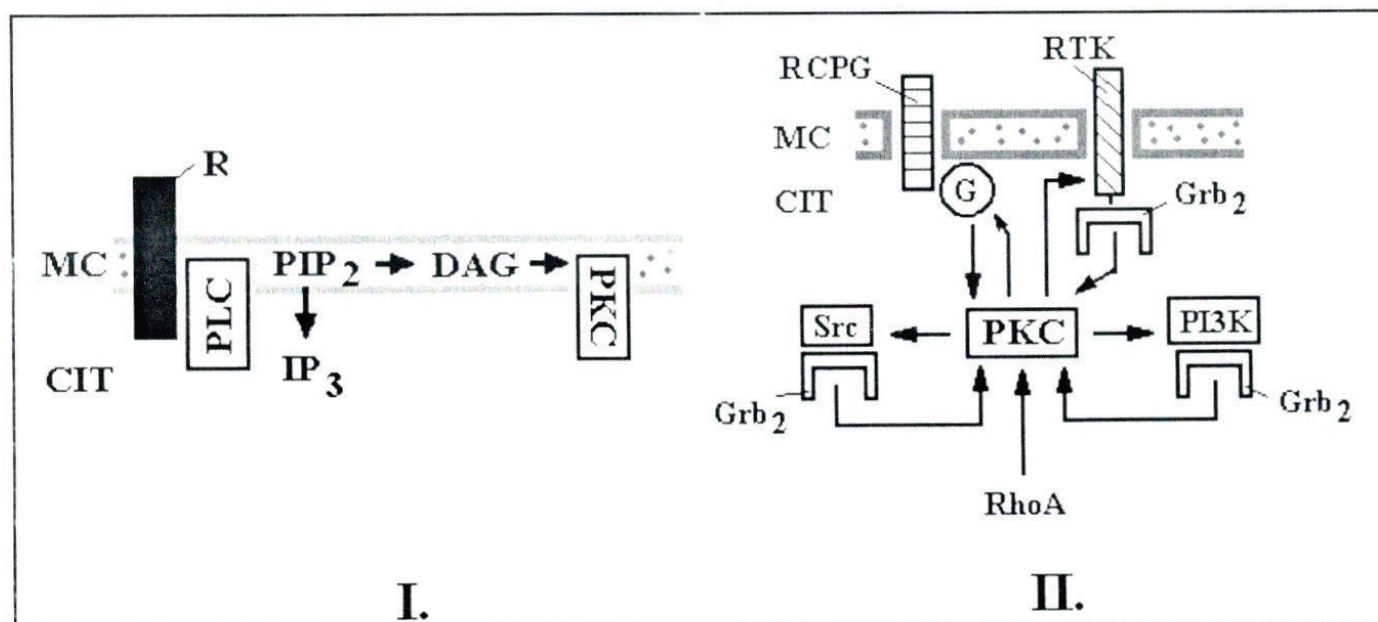


Figura 1 Activarea protein kinazei C

SEMNALIZAREA INTRACELULARĂ DEPENDENTĂ DE PKC

Secundar activării PKC, sunt inițiate un număr mare de procese biologice, legate de contracție, mitogeneză, formă, apoptoză etc.

Dat fiind faptul că lucrarea de față este axată pe fenomenul contractil, semnalele intracelulare transmise prin intermediul PKC vor fi împărțite în:

- semnale cu efect contractil,
- semnale cu efect relaxant și
- alte semnale.

SEMNALE CU EFECT CONTRACTIL

PKC fosforilează canalele membranare de calciu de tip L, atât la nivelul subunității a_{1C} cât și b_3 ^(13,16), favorizând pătrunderea ionului în celulă (Fig. 2).

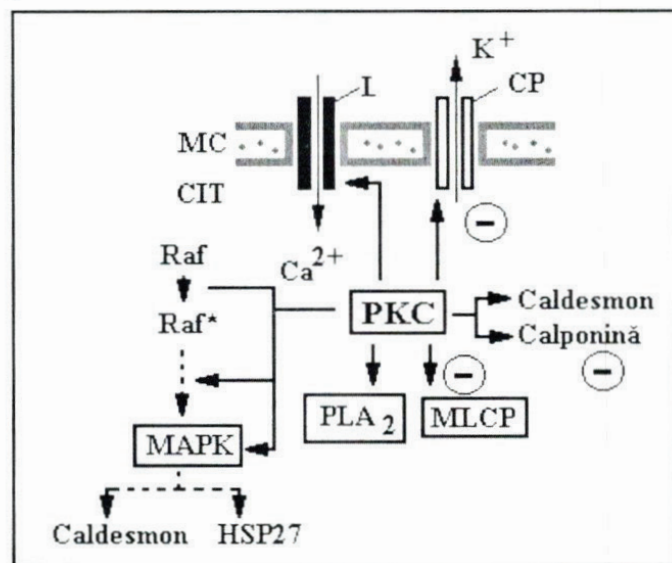


Figura 2 Semnalizarea intracelulară prin PKC. Acțiuni cu efect contractil.

Protein kinaza C (PKC) fosforilează: canalele de calciu de tip L (L) - cu stimularea pătrunderii ionului în celulă; fosfataza lanțurilor ușoare ale miozinei (myosin light chain phosphatase - MLCP); calponina și caldesmonul; fosfolipaza A_2 (PLA_2), canalele de K^+ (CP) Ca^{2+} -dependente și ATP-dependente; lanțul Raf/MAP kinazelor (MAPK) activată poate fosforila caldesmonul și proteina de șoc termic - heat shock protein 27 - HSP27; linia punctată marchează etape multiple, în cazul activării MAPK și un efect contractil discutabil în cazul caldesmonului și HSP27; (-) = efect negativ; toate celelalte săgeți marchează efect stimulant; Raf* = proteina Raf activată; Raf = Ras-activated factor; MAP = mitogen-activated protein; MC = membrană celulară; CIT = citoplasmă)

PKC fosforilează caldesmonul și calponina⁽¹⁾.

Ca urmare, calponina, care are rol inhibitor, se detașează de pe filamentele de actină, permițând interacțiunea acestora cu miozina.

În același timp, caldesmonul fosforilat favorizează menținerea fazei tonice a contracției, în condițiile în care concentrația de calciu în citosol, precum și gradul de fosforilare a miozinei, scad rapid⁽³⁷⁾.

Inactivează fosfataza lanțurilor ușoare ale miozinei (myosin light chain phosphatase - MLCP⁽³³⁾). Astfel, miozina rămâne în

stare fosforilată, deci aptă să se cupleze cu actina.

Activează fosfolipaza A_2 (PLA_2)⁽²²⁾, care va hidroliza diverse fosfatide, cu generarea de acid arahidonic. Acesta reprezintă substratul sintezei de eicosanoizi (în primul rând de prostaglandine), cu efect contractil.

Fosforilează canalele membranare de K^+ , atât cele Ca^{2+} -dependente⁽¹⁸⁾ cât și cele ATP-dependente⁽³⁾, scăzându-le conducerea. Ca urmare, se reduce efluxul de potasiu, favorizându-se depolarizarea membranei celulare.

Fosforilează practic toți membrii sistemului Raf/MEK/MAP kinazelor - proteina Raf (Ras-activated factor)⁽¹⁹⁾, MAPK kinazele (MAP kinase kinases - MEK), MAPK (mitogen-activated protein kinase)^(5,29).

Acest complex de serin/treonin kinaze este implicat, în primul rând, în transmiterea semnalului mitogen. Totuși, cel puțin teoretic, activarea caldesmonului sau a proteinelor de șoc termic 27 (heat shock protein 27 - HSP27) ar putea crește contractilitatea fibrelor musculare netede⁽⁶⁾.

SEMNALE CU EFECT RELAXANT

Enzima fosforilează fosfolambanul, care își pierde astfel afinitatea și acțiunea inhibitoare asupra pompei de calciu de la nivelul depozitelor intracelulare.

Are loc stimularea pompei, cu reintroducerea ionului în calciomi⁽²⁸⁾ (Fig. 3).

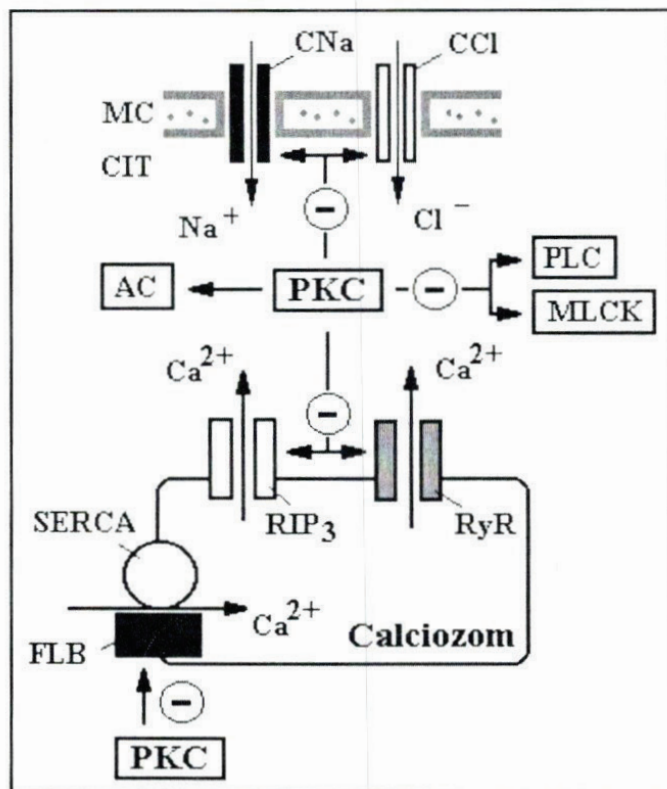


Figura 3 Semnalizarea intracelulară prin PKC. Acțiuni cu efect relaxant.

PKC fosforilează și inactivează fosfolambanul (FLB), cu activarea pompei de calciu de la nivelul calciomilor - SERCA (sarco-endoplasmic reticulum Ca^{2+} -ATP-ase); receptorii-canale de calciu sensibile la IP_3 (inozitol (1,4,5) trifosfat) (RIP_3) și, respectiv, la ryanodină (RyR); kinaza lanțurilor ușoare ale miozinei - MLCK (myosin light chain kinase); fosfolipaza C (PLC); canalele membranare de Cl^- (CCI) și de Na^+ (CNa). Activează, în schimb, adenilat ciclaza (AC). (MC = membrană celulară; CIT = citoplasmă)

PKC fosforilează canalele de calciu sensibile la inozitol (1,4,5) trifosfat (IP_3) și cele sensibile la ryanodină, situate pe membrana calciomilor, diminuând mobilizarea ionului⁽²³⁾.

Inactivează kinaza lanțurilor ușoare ale miozinei – MLCK (myosin light chain kinase)⁽²³⁾. Miozina rămâne astfel nefosforilată, deci incapabilă să interacționeze cu actina.

Activează adenilat ciclaza (AC)⁽²²⁾; AMPc, rezultat prin acțiunea acesteia, are efect intens tocolitic.

De asemenea, PKC fosforilează PLC, izoformele beta (în special β_1)⁽¹⁰⁾ și gamma⁽¹⁷⁾, cu reducerea activității enzimatice.

Se poate observa că, prin acest mecanism, se realizează un autocontrol al PLC, în sensul că, pe de-o parte ea activează PKC (prin intermediul DAG), iar pe de altă parte, este inhibată de către aceasta din urmă.

Per ansamblu, domină efectul ocitocic al PKC, fapt demonstrat prin contracția fragmentelor de miometru, în condiții experimentale.

Astfel, stimularea ei (cu esteri de forbol) determină o contracție cu amplitudine de 40-50% (în medie 38%) din cea martor, înregistrată la oxitocină⁽³⁴⁾.

De asemenea, este important de menționat implicarea PKC în semnalizarea intracelulară din cadrul contracției automate a fibrei musculare netede uterine.

În condiții experimentale, stimularea ei (cu esteri de forbol) determină o creștere a frecvenței cu 20-30% (în medie cu 22%) și a amplitudinii cu 25-50% (în medie cu 27%) a oscilațiilor spontane⁽³⁴⁾.

ALTE SEMNALE

PKC mai fosforilează (Fig. 4):

- **receptorii tirozin kinazici**, după cuplarea prealabilă a acestora cu *proteine adaptor de tipul Grb₂*⁽¹⁵⁾ (Fig. 1.). Are loc activarea receptorilor și inițierea semnalizării intracelulare specifice factorilor de creștere, chiar și în lipsa agoniștilor specifici. (Interacțiunea este în ambele sensuri – vezi mai sus.)
- **accelerează schimbul GDP/GTP la nivelul proteinelor Ras** (prin fosforilarea lor?)⁽³⁵⁾, cu efect mitogen (Fig. 4);
- **kinaza focarelor de adeziune (focal adhesion kinase – FAK)**⁽¹²⁾, cu rol în modelarea citoscheletului de actină celulară (Fig. 4);
- **proteinele Gs**, cuplate cu receptorii membranari⁽²⁴⁾, determinând direct activarea *adenilat ciclazei* (AC), fără stimularea prealabilă a RCPG (Fig. 1.). (Interacțiunea RCPG/PKC este bidirecțională – vezi mai sus.)
- **fosfolipaza D (PLD)**⁽²⁰⁾, cu roluri biologice încă destul de puțin cunoscute (Fig. 4);
- **tirozin kinazele Src**^(4,30) (Fig. 1.). (Interacțiunea este în ambele sensuri.)
- **serin/treonin kinazele sistemului Raf/MEK/MAPK** (Fig. 2.),
- **PI3K**, după cuplarea cu acesteia cu *proteine adaptor de tipul Grb₂* (Fig. 1.). (Interacțiunea este bidirecțională.)
- **proteine de tipul STAT (signal transducers and activators of transcription)**⁽¹⁴⁾.

Ultimele patru acțiuni sunt implicate în creșterea și multiplicarea celulară, deci au efect mitogen.

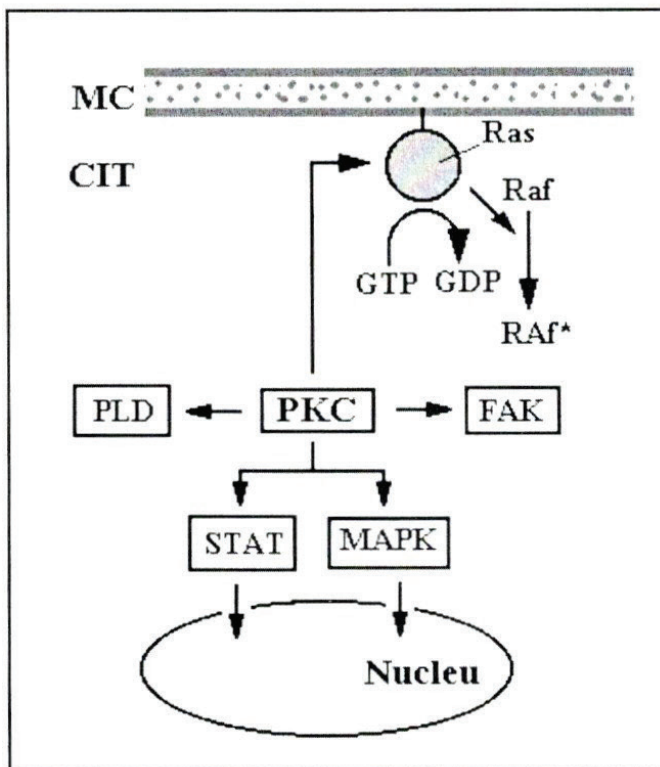


Figura 4 Alte semnale intracelulare PKC-dependente

PKC fosforilează și activează: *fosfolipaza D (PLD)*; *kinaza focarelor de adeziune (focal adhesion kinase – FAK)*; *proteinele Ras*, *proteine de tip STAT (signal transducers and activators of transcription)*, care apoi pătrund în nucleu și activează o serie de structuri genice. (MC = membrană celulară; CIT = citoplasmă)

BIBLIOGRAFIE

1. Allen BG and Walsh MP. The biochemical basis of the regulation of smooth muscle contraction. *FEBS Lett*, 1993; 19: 362-8.
2. Blaukat A, Barac A, Cross MJ et al. G-protein-coupled receptor-mediated mitogen-activated protein kinase activation through cooperation of Gq and Gi signals. *Mol Cell Biol*, 2000; 20(18): 6837-48.
3. Bonev AD and Nelson MT. Muscarinic inhibition of ATP-sensitive K⁺ channels by protein kinase C in urinary bladder smooth muscle. *Am J Physiol Cell Physiol*, 1993; 265(34): C1723-C1728.
4. Brandt D, Gimona M, Hillmann M et al. Protein kinase C induces actin reorganization via a Src- and Rho-dependent pathway. *J Biol Chem*, 2002; 277(23): 20903-10.
5. Dehez S, Bierkamp C, Kowalski-Chauvel A et al. c-Jun NH(2)-terminal kinase pathway in growth-promoting effect of the G-protein coupled receptor cholecystokinin B receptor: a protein kinase C/Src-dependent mechanism. *Cell Growth Differ*, 2002; 8: 375-85.
6. Dessy, C, Kim I, Sougnez CL et al. A role for MAP kinase in differentiated smooth muscle contraction evoked by -adrenoceptor stimulation. *Am J Physiol Cell Physiol*, 1998; 275: C1081-C1086.
7. Di Liberto G, Dallot E, Eude-le Paco I et al. A critical role for PKCzeta in endothelin-1-induced uterine

- contractions at the end of pregnancy. *Am J Cell Physiol*, 2003; 285(3): C599-C607.
8. **Eude I, Dallot E, Ferre F et al.** Protein kinase C α is required for endothelin-1-induced proliferation of human myometrial cells.
9. **Eude I, Paris B, Cabrol D et al.** Selective protein kinase C isoforms are involved in endothelin-1-induced human uterine contraction at the end of pregnancy. *Biol Reprod*, 2000; 63: 1567-73.
10. **Fisher SK.** Homologous and heterologous regulation of receptor-stimulated phosphoinositide hydrolysis. *Eur J Pharmacol*, 1995; 288: 231-50.
11. **Giorgione J, Hysell M, Harvey DF et al.** Contribution of the C1A and C1B domains to the membrane interaction of protein kinase C. *Biochemistry*, 2003; 42(38): 11194-202.
12. **Heidkamp MC, Bayer AL, Scully BT et al.** Activation of focal adhesion kinase by protein kinase epsilon in neonatal rat ventricular myocytes. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 2003; 285(4): H1684-H1696.
13. **Hullin R, Singer-Lahat D, Freichel M et al.** Calcium channel subunit heterogeneity: functional expression of cloned cDNA from heart, aorta and brain. *EMBO J*, 1992; 11: 885-90.
14. **Jackson EK and Garrison JC.** Renin and angiotensin. In: Goodman and Gillman's *The Pharmacological Basis of Therapeutics*, 2001; International Ed.: 738-9.
15. **Kawakami Y, Kitaura J, Yao L et al.** A ras activation pathway dependent on Syk phosphorylation of protein kinase C. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2003; 100(16): 9470-5.
16. **Kennelly P and Krebs EG.** Consensus sequences as substrate specificity determinants for protein kinases and protein phosphatases. *J Biol Chem*, 1991; 266: 15555-8.
17. **Kim UH, Fink D Jr, Kim HS et al.** Nerve growth factor stimulates phosphorylation of phospholipase C-gamma in PC12 cells. *J Biol Chem*, 1991; 266: 1359-1362, 1991
18. **Kitamura K, Xiong Z, teramoto N et al.** Roles of inositol trisphosphate and protein kinase C in the spontaneous outward current modulated by calcium release in rabbit portal vein. *Pflügers Arch*, 1992; 421: 539-51.
19. **Kolch W, Heidecker G, Kochs G et al.** Protein kinase C α activates Raf-1 by direct phosphorylation. *Nature*, 1993; 364: 249-52.
20. **Le Stunff H, Dockhac L, Bourgoins S et al.** PLD in rat myometrium: occurrence of a membrane-bound ARFC (ADP-ribosylation factor)-regulated activity controlled by β subunits of heterodimeric G-proteins. *Biochem J*, 2000; 352: 491-9.
21. **Le Stunff H, Dockhac L and Harbon.** *J Pharmacol Exp Ther*, 2000, 292: 629-37.
22. **Lin WW and Chen BC.** Distinct PKC isoforms mediate the activation of cPLA2 and adenylyl cyclase by phorbol ester in RAW264.7 macrophages. *Br J Pharmacol*, 1998; 125(7): 1601-9.
23. **Loirand G, Lompre A-M, Savineau J-P et al.** Tonus des muscles lisses vasculaires: transmissions du signal dependantes et independantes du Ca²⁺. *Med Sci*, 1997; 13: 766-76.
24. **Marjamaki A, Motohito S, Bouet-Alard R et al.** Factors determining the specificity of signal transduction by guanine nucleotide-binding protein-coupled receptors. *JBC*, 1997; 272(26): 16466-73.
25. **Miller C and White M.** Dimeric structure of single chloride channels from Torpedo electroplax. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1984; 81: 2772-5.
26. **Numann R, Hauschka SD, Catterall WA et al.** Modulation of skeletal muscle sodium channels in a satellite cell line by protein kinase C. *J Neurosci*, 1994; 14: 4226-36.
27. **Pozzan T, Rizzuto R, Volpe P et al.** Molecular and cellular physiology of intracellular calcium stores. *Physiol Rev*, 1994; 74: 595-636.
28. **Raemaekers L and Wuytack F.** Ca²⁺ pumps. In: Barrany M., Ed. *Biochemistry of smooth muscle contraction*. New York: Academic Press, 1996: 241-53.
29. **Rebecchi MJ and Pentylala SN.** Structure, function and control of phosphoinositide-specific phospholipase C. *Physiol Rev*, 2000; 80: 1291-335.
30. **Robin P, Boulven I, Desmyter C et al.** ET-1 stimulates ERK signaling pathway through sequential activation of PKC and Src in rat myometrial cells. *Am J Physiol Cell Physiol*, 2002; 283: C251-C260.
31. **Shindo M, Irie K, Nakahara A et al.** Toward the identification of selective modulators of protein kinase C (PKC) isoenzymes: establishment of a binding assay for PKC isoenzymes using synthetic C1 peptide receptors and identification of the critical residues involved in the phorbol ester binding. *Bioorg Med Chem*, 2001; 9(8): 2073-81.
32. **Slater SJ, Seiy JL, Stagliano BA et al.** Interaction of protein kinase C isoenzymes with Rho GTP-ases. *Biochemistry*, 2001; 40(14): 4437-45.
33. **Somlyo AP and Somlyo AV.** Signal transduction and regulation in smooth muscle. *Nature*, 1994; 372: 231-6.
34. **Tica AA.** Studiul semnalizării intracelulare implicate în modularea contracției uterine. *Teză de doctorat*, 2002.
35. **Wing MR, Snyder JT, Somdek J et al.** Direct activation of phospholipase C-epsilon by Rho. *J Biol Chem*, 2003; 278(42): 41253-8.
36. **Wooten MW, Vandenplas ML, Seibenhener ML et al.** Nerve growth factor stimulates multisite tyrosine phosphorylation and activation of atypical protein kinase C^v via a src kinase pathway. *Mol Cell Biol*, 2001; 24: 8414-27.
37. **Yamboliev IA, Hedges JC, Mutnik Jk et al.** Evidence of modulation of smooth muscle force by the p38 MAP kinase/HSP27 pathway. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 2000; 278: H1899-H1907.