

Р.Б. Струтинський, О.О. Мойбенко, С.М. Пивовар,
В.Є. Досенко, Л. М. Ягупольський

АТФ-чутливі калієві канали та зміни їх функціональної активності при цукровому діабеті, викликаному введенням стрептозотоцину

Показано, що при експериментальному (введення стрептозотоцину) сахарному діабеті у крыс спостерігається ослаблення вазодилататорних ефектів в препараті ізольованої аорти в відповідь на активацію АТФ-залежних калієвих каналів з допомогою нового синтетического активатора флокаліна. Степень ослаблення вазодилататорних реакцій залежить від характеру вихідної вазоконстрикції. Найбільше ослаблення спостерігалося при норадреналінової вазоконстрикції – на 43,34 % порівняно з контрольними реакціями на препаратах аорти здорових крыс. Відповідне ослаблення при ангіотензинової вазоконстрикції становило 20,37 %. На фоні калієвої деполяризації вазодилататорні ефекти флокаліна в невеликих дозах (до 0,01 ммоль/л) практично не відрізнялися у контрольних тварин і тварин з діабетом. При збільшенні концентрації флокаліна до 0,1 ммоль/л спостерігається суттєве зменшення його ефектів – на 22,4 %. Згаснення ефектів флокаліна норадреналіном в аорті тварин з діабетом порівняно з контрольними ефектами на фоні калієвої деполяризації значно збільшується – в 3,9 рази, тоді як згаснюючі ефекти ангіотензину II практично не відрізняються у контрольних і експериментальних тварин. В той же час констрикторні ефекти на біологічно активні речовини зберігалися і не відрізнялися від контрольних. Слід вважати, що порушення судинної реактивності при сахарному діабеті частково пов'язано з зміною (порушенням) функції АТФ-залежних калієвих каналів.

ВСТУП

АТФ-чутливі калієві (K_{ATP}) канали відіграють важливу роль у регуляції багатьох функцій організму, зокрема судинного тонуусу та секреції інсуліну [9, 30, 34, 37]. Встановлено, що K_{ATP} -канали цитоплазматичної мембрани β -клітин острівців Лангерганса знаходяться у відкритому стані і вихід K^+ за градієнтом концентрації сприяє підтриманню мембранного потенціалу спокою. У разі підвищення концентрації глюкози внаслідок метаболічних змін, кінцевим результатом яких є змен-

шення співвідношення АТФ/АДФ, K_{ATP} -канали β -клітин закриваються, відбувається деполяризація клітинної мембрани, що, в свою чергу, призводить до активації потенціалзалежних кальцієвих каналів, збільшення внутрішньоклітинної концентрації Ca^{2+} та екзоцитозу гранул з інсуліном [16,34]. Ще до відкриття в 1983 р. Нома [28] K_{ATP} -каналів похідні сульфонілсечовини, зокрема глібенкламід (специфічний блокатор цих каналів), почали використовуватися в клінічній практиці як препарати, що зменшують вміст цукру в

крові [5]. В інших клітинах (гладеньком'язових, кардіоміоцитах тощо) $K_{AT\Phi}$ -канали за звичайних умов знаходяться переважно у закритому стані й активуються в разі певних метаболічних порушень. Відкриття $K_{AT\Phi}$ -каналів за умов гіпоксії, ішемії призводить до розширення кровоносних судин, покращення кровопостачання тканин і збільшення резистентності клітин до дії пошкоджувальних факторів. Застосування синтетичних активаторів $K_{AT\Phi}$ -каналів дозволяє значно зменшити негативні наслідки дефіциту кисню через перехід клітин у так званий прекодиційний стан, в якому їх витривалість до несприятливих умов існування значно збільшується [3].

Отже, виникає медична проблема – або сприяти секреції інсуліну та зменшувати стійкість тканин до гіпоксії, або поліпшувати кровопостачання тканин і пригнічувати виділення інсуліну β -клітинами. Особливої гостроти це питання набуває коли йдеться про лікування хворих на цукровий діабет (ЦД), в яких значно збільшений ризик розвитку серцево-судинної патології [1, 8, 14, 32]. Вирішення цього питання, на думку багатьох учених, пов'язане з пошуком нових активаторів $K_{AT\Phi}$ -каналів, що не впливають на регуляторні субодиниці (SUR 1) каналів β -клітин.

Як експериментальні, так і клінічні дослідження переконливо свідчать про те, що реактивність артеріальних судин значно змінюється при різних видах ЦД. Встановлено, що у хворих на ЦД I типу із судинними ускладненнями та у щурів із стрептозотоциніндукованим ЦД (модель інсулінзалежного) значно посилюється активність ангіотензин-перетворювального ферменту [11]. Водночас при довготривалому ЦД зменшується здатність $K_{AT\Phi}$ -каналів розширювати судини при гіпоксії [26] та у відповідь на дію їх активаторів [21, 32], що зумовлює збільшення чутливості тканини до ішемічного ушкодження.

Взагалі, порушення чутливості та/або активності $K_{AT\Phi}$ -каналів може вважатись одним із патогенетичних механізмів розвитку артеріальної гіпертензії у хворих на ЦД [14]. Відомо, що активність $K_{AT\Phi}$ -каналів залежить від характеру підвищення судинного тонуру [4, 30]. У той же час, при ЦД може змінюватися реактивність судин до різних вазоактивних агентів [31, 32], які, у свою чергу, можуть впливати на активність $K_{AT\Phi}$ -каналів.

Мета нашої роботи – дослідження вазодилаторних властивостей нового вітчизняного фторвмісного активатора $K_{AT\Phi}$ -каналів флокаліну при підвищенні судинного тонуру у щурів із експериментальним стрептозотоциновим ЦД.

МЕТОДИКА

Досліди проведено на 39 щурах-самцях лінії Вістар масою 275 – 325 г, яких було розділено на дві групи: контрольну (20 тварин) та дослідну (19 тварин). Щурам дослідної групи інтраперитонеально вводили стрептозотонин (“Sigma Aldrich”, США) в дозі 50 мг/кг у 0,1 моль/л цитратному буфері (рН 4,5) одноразово [2]. Для підтвердження відтворення діабету у щурів фотометрично визначали вміст глюкози у сироватці крові з використанням глюкозооксидазного методу (“Агат-мед”, Україна) та у крові з використанням глюкометра “Глюкофорт” (Україна), а також вміст глюкози у сечі – за допомогою діагностичних смужок “Пентафан” (“Lachema”, Чехія). Тварин декапітували під уретановим наркозом через 4 тиж після введення стрептозотонину. Тензометричні дослідження проводили на ізольованих кільцевих смужках торакальної аорти щурів (діаметр 2 мм, ширина 1,5 мм), перфузованих при $37 \text{ }^\circ\text{C} \pm 0,5 \text{ }^\circ\text{C}$ нормальним розчином Кребса. Усі тестування здійснювали в ізометричному режимі при початково заданій напруженості, при якій смужки ге-

нерували максимальну силу у відповідь на дію норадреналіну (10 мкмоль/л). Робочий розчин насичували киснем за допомогою карбогену (газова суміш 95 % O_2 і 5 % CO_2). Перед вимірюванням препарати, закріплені в експериментальній камері, витримували протягом 60 хв у нормальному розчині Кребса наступного складу (ммоль/л): $NaCl$ – 120,4; KCl – 5,9; $NaHCO_3$ – 15,5; NaH_2PO_4 – 1,2; $MgCl_2$ – 1,2; $CaCl_2$ – 2,5; глюкоза – 11,5. Гіперкалієвий розчин Кребса готували еквімолярною заміною $NaCl$ на KCl , кінцева молярність яких була (ммоль/л): $NaCl$ – 36,3 та KCl – 90 відповідно.

Дослідження вазодилаторного ефекту активатора K_{ATP} -каналів флокаліну проводили після підвищення судинного тону препарату аорти за допомогою гіперкалієвого розчину Кребса або попереднього введення в перфузуючий розчин норадреналіну (10 мкмоль/л) й ангіотензину II (1 мкмоль/л) залежно від поставленої мети експерименту.

У роботі використано солі для приготування розчинів, а також норадреналін та ангіотензин II фірми “Sigma” (США). Флокалін та його розчинник диметилацетамід виготовлені співробітниками Інституту органічної хімії НАН України.

Отримані результати обробляли математично за методом варіаційної статистики за допомогою комп’ютерної програми Origin 6,0. Достовірність результатів визначали за критерієм t Стьюдента. Значення $P < 0,05$ розглядали як статистично достовірні.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Через 4 тиж після введення стрептозотоцину у щурів значно збільшується вміст глюкози у крові (19,37 ммоль/л \pm 1,29 ммоль/л) і сечі (більше ніж 50 ммоль/л \pm 5 ммоль/л), а також спостерігаються додаткові ознаки ЦД – полідипсія, поліурія,

втрата маси тіла.

Відомо, що при ЦД, викликаному введенням стрептозотоцину, змінюється реактивність судин до деяких вазоактивних агентів, зокрема до ендотеліну-1, кальцитонін-ген-розслаблювального пептиду, серотоніну, ангіотензину II та норадреналіну [7,8,12,24 – 26,29,31,36]. Наші результати свідчать про те, що сила скорочення ізольованих кільцевих препаратів аорти, зумовлена гіперкалієвим розчином Кребса або норадреналіном (10 мкмоль/л) практично не відрізнялася в контрольній групі та групі тварин із ЦД. Збільшення напруження судинної стінки, спричинене гіперкалієвою деполяризацією у тварин із ЦД становило у середньому $20421,39 \text{ Н/м}^2 \pm 1022,55 \text{ Н/м}^2$ ($P < 0,00001$; $n=32$) та було недостовірно меншим порівняно з напруженням судинної стінки у контрольній групі – $22951,95 \text{ Н/м}^2 \pm 763,25 \text{ Н/м}^2$ ($P < 0,00001$; $n=58$). Практично однакові скорочення судинних препаратів при калієвій деполяризації у контрольних тварин і тварин із ЦД були також отримані й іншими дослідниками [23, 25]. За даними Head та співавт. [12] максимальні вазоконстрикторні відповіді судинних препаратів при калієвій деполяризації у тварин із ЦД можуть також зменшуватися.

У разі введення норадреналіну напруження стінки аорти у тварин із ЦД становило у середньому – $13087,83 \text{ Н/м}^2 \pm 2099,23 \text{ Н/м}^2$ ($P < 0,0001$; $n=11$) та майже не відрізнялося від контрольних значень – $13254,98 \text{ Н/м}^2 \pm 1821,05 \text{ Н/м}^2$ ($P < 0,0004$; $n=7$). Дані інших дослідників є досить суперечливими – вазоконстрикторна відповідь судинних препаратів тварин із ЦД на дію норадреналіну може залишатися незмінною [23, 29, 31, 35], збільшуватися [7, 29, 31], або навпаки, зменшуватися [18, 26], що можна пояснити проведенням дослідів на різній стадії розвитку діабету та різним експериментальним матеріалом (різні типи судин).

Вазоконстрикторний ефект ангіотензину II на препарат судинної стінки тварин із ЦД був дещо меншим порівняно з контролем, проте при статистичному аналізі отриманих результатів достовірності цих змін не виявлено. Напруження судинної стінки аорти щурів із ЦД у відповідь на дію ангіотензину II (1 мкмоль/л) становило у середньому $5467,12 \text{ Н/м}^2 \pm 587,73 \text{ Н/м}^2$ ($P < 0,00001$; $n=25$), тоді як у контролі – $7279,66 \text{ Н/м}^2 \pm 558,55 \text{ Н/м}^2$ ($P < 0,00001$; $n=17$). За даними інших дослідників вазоконстрикторний ефект ангіотензину II може посилюватися на ранніх стадіях діабету [8], залишатись незмінним [12, 24] та зменшуватися [12].

Таким чином, у наших дослідах вазоконстрикторні ефекти норадреналіну, ангіотензину II і гіперкалієвої деполяризації при експериментальному ЦД практично не відрізнялися від контролю.

В іншій серії експериментів досліджували вазодилаторні ефекти нового фтор-

вмісного активатора АТФ-залежних калієвих каналів флокаліну за умов ЦД. Показано, що у щурів із ЦД відбувається послаблення вазодилаторних ефектів флокаліну порівняно з контрольними тваринами, а ступінь цього послаблення залежить від характеру початкового підвищення судинного тону (рис.1).

У серії експериментів на фоні калієвої деполяризації в обох групах тварин флокалін викликав дозозалежне розслаблення ізольованих кільцевих смужок аорти щурів (рис.2). Проте, якщо при використанні невеликих концентрацій флокаліну (до 10 мкмоль/л) інтенсивність вазодилатації в обох групах тварин практично не відрізнялася, то при подальшому збільшенні концентрації флокаліну спостерігалось суттєве зменшення його ефектів у тварин із ЦД. При концентрації 0,1 ммоль/л його вазодилаторні ефекти у цих тварин становили у середньому $62,94 \% \pm 2,56 \%$ ($P < 0,00001$; $n=9$) від вихідного рівня, що

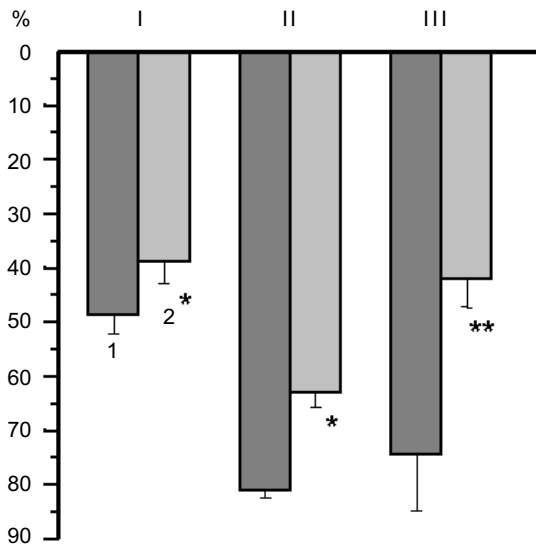


Рис. 1. Залежність вазодилаторних ефектів флокаліну від типу попередньої вазоконстрикції в аорті здорових (1) та щурів з діабетом (2).

I – ангіотензин II і флокалін; II – гіперкалієвий розчин Кребса та флокалін; III – норадреналін і флокалін
* $P < 0,0002$; ** $P < 0,007$; P1(1), П (1) $< 0,001$; P1(2), П(2) $< 0,0002$; PП(2), ПП(2) $< 0,003$

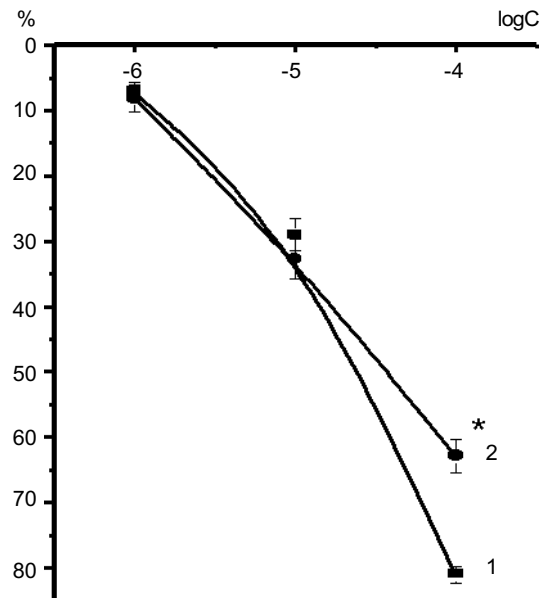


Рис. 2. Залежність вазодилаторних реакцій ізольованих препаратів аорти, щурів від діючої концентрації флокаліну (моль/л) на фоні гіперкалієвої деполяризації: 1 – контроль; 2 – тварини з діабетом. $P < 0,0002$

було значно меншим ніж у контролі – $81,135 \% \pm 1,27 \%$ ($P < 0,00001$; $n=7$). Достовірна відмінність результатів вазодилататорних ефектів флокаліну (концентрації $0,1$ ммоль/л) на фоні гіперкалієвої деполаризації між двома групами тварин становить $P < 0,0002$. Таким чином, вазодилататорні відповіді аорти щурів із ЦД при дії високої концентрації (100 мкмоль/л) активатора K_{ATP} -каналів флокаліну були меншими, ніж у контролі майже на четвертину, а саме на $22,4 \%$ (див.рис.1, II, рис.2).

Вазодилататорні ефекти флокаліну на фоні норадреналінової вазоконстрикції здорових та тварин із ЦД становили у середньому $74,22 \% \pm 10,56 \%$ ($P < 0,003$; $n=7$) та $42,05 \% \pm 5,1 \%$ ($P < 0,00001$; $n = 11$) відповідно (див. рис.1, III), тобто у тварин з ЦД вони зменшувалися на $43,34 \%$. Ці результати збігаються з даними Mahmoudian та співавт. [23], який досліджував “інгібіторний вплив” активатора K_{ATP} -каналів діазоксиду на вазоконстрикторні ефекти норадреналіну при ЦД, викликаному введенням стрептозоцину. За його даними, ефекти діазоксиду становили $48,22 \%$ у здорових та $26,96 \%$ у тварин із ЦД, тобто у хворих тварин ефекти діазоксиду порівняно з контролем зменшувались у $1,789$ раза, що практично збігається з нашими результатами (у $1,765$ раза).

Суттєво зменшеними порівняно з контролем виявилися ефекти флокаліну ($0,1$ ммоль/л) при ЦД на фоні ангіотензинової вазоконстрикції та становили у середньому $48,65 \% \pm 1,44 \%$ ($P < 0,001$; $n=9$) у здорових і $38,74 \% \pm 4,15 \%$ ($P < 0,00001$; $n=15$) у тварин із ЦД, тобто у хворих тварин ефекти флокаліну порівняно з контролем зменшувалися на $20,37 \%$ (див.рис.1, I).

За даними інших дослідників, чутливість K_{ATP} -каналів до активаторів залежить від стадії розвитку ЦД. На ранніх

стадіях чутливість K_{ATP} -каналів до фармакологічних активаторів може збільшуватися, зокрема у великих коронарних артеріях собак [17] та артеріолах нирок щурів [13] і залишатися незмінною в малих коронарних артеріях собак [17]. При довготривалому діабеті чутливість K_{ATP} -каналів до їх активаторів, навпаки, зменшувалася в аорті, мезентеріальних і церебральних артеріях щурів [21, 32] і залишалася незмінною в аорті та мезентеріальних артеріях [6, 10].

За даними Sobey та співавт. [32] такі зміни можуть спричинятися зменшенням кількості судинних K_{ATP} -каналів чи “чутливості” цих каналів до їх фармакологічних активаторів. Можливо, це пояснюється зменшенням чутливості SUR-субодиниць відповідних каналів, бо комплекс ушкоджувальних факторів за умов ЦД може зумовлювати необхідність постійної активації K_{ATP} -каналів. За даними Zimmermann та співавт. [38] зменшення відповіді останніх на фармакологічні активатори може бути частково NO-залежним, що здається цілком імовірним. Відомо, що деякі активатори K_{ATP} -каналів розслаблюють судини не тільки діючи прямо на судинні гладеньком’язові клітини, але і через ці канали ендотеліальних клітин, активація котрих збільшує звільнення молекул NO [15, 20, 22], що призводить до посилення вазодилатації. Однак розвиток ендотеліальної дисфункції при ЦД може пригальмувати цей ефект [33, 38]. Водночас зменшення вазодилататорних ефектів активаторів K_{ATP} -каналів при ЦД може бути NO-незалежним – про що свідчать однакові ефекти активаторів у експериментах зі зруйнованим і неушкодженим ендотеліальним шаром клітин [32].

Відомо, що на вазодилатацію, опосередковану активацією K_{ATP} -каналів, порізно впливають такі вазоактивні агенти, як ендотелін-1 [27], вазопресин [36], ангіотензин II [4, 19] і норадреналін [4].

Водночас при ЦД може змінюватися реактивність судин до різних вазоактивних агентів [31, 32], які безпосередньо можуть впливати на активність $K_{AT\Phi}$ -каналів.

На нашу думку, порівняння ефектів активаторів $K_{AT\Phi}$ -каналів у здорових тварин і тварин із ЦД не показує дійсної активності цих каналів і різних вазоконстрикторних впливів на таку активність, тому що у тварин із ЦД по суті змінюється сама чутливість $K_{AT\Phi}$ -каналу до його активаторів за даними Sobey та співавт. [32] і нашими результатами (ефекти флокаліну на фоні калієвої деполяризації). Отже, при аналізі експериментальних даних обов'язково треба враховувати можливі зміни чутливості $K_{AT\Phi}$ -каналу до їх фармакологічних активаторів при різних патологічних станах.

Підтвердженням цьому можуть бути вазодилаторні ефекти флокаліну на фоні ангіотензинової вазоконстрикції в аорті контрольних тварин і тварин із ЦД. Якщо не враховувати зміну "чутливості" $K_{AT\Phi}$ -каналів у тварин із ЦД, то при порівнянні ефектів флокаліну здається, що при діабеті ангіотензин II більше пригнічує ефекти флокаліну (див. рис.1, I). Аналізуючи вазодилаторні ефекти флокаліну з урахуванням зміни чутливості $K_{AT\Phi}$ -каналу до його активаторів при викликаному введенням стрептозотоцину, діабеті, отримуємо інший результат. Вазодилаторні ефекти флокаліну (0,1 ммоль/л) в аорті щурів із ЦД на фоні ангіотензинової вазоконстрикції становили у середньому $38,74\% \pm 4,15\%$ ($P < 0,00001$; $n=15$) від вихідного рівня, що було значно меншим за його ефекти на фоні гіперкалієвої деполяризації – $62,94\% \pm 2,56\%$ ($P < 0,00001$; $n=9$), (див.рис.1, I(2) та II(2)). Достовірність результатів вазодилаторних ефектів флокаліну на препаратах щурів із ЦД між серіями на фоні гіперкалієвої та ангіотензинової деполяризації становить $P < 0,0002$. Таким чином, якщо максималь-

не розслаблення судинної смужки щура з ЦД $62,94\%$, то пригнічення вазодилаторних ефектів флокаліну ангіотензином II становить $38,45\% \pm 5,93\%$, що є дуже наближеним до отриманого нами раніше [4] пригнічення ефектів флокаліну ангіотензином II в аорті контрольних тварин – $40,04\%$ (рис. 3). Отже, розвиток ЦД, викликаного введенням стрептозотоцину, не змінює силу пригнічення вазодилаторних ефектів активатора $K_{AT\Phi}$ -каналів флокаліну ангіотензином II.

Вазодилаторні ефекти флокаліну (0,1 ммоль/л) в аорті здорових щурів на фоні норадреналінової вазоконстрикції становили в середньому $74,22\% \pm 10,56\%$ ($P < 0,003$; $n=7$) від вихідного рівня, на фоні гіперкалієвої деполяризації – $81,135\% \pm 1,27\%$ ($P < 0,0001$; $n=7$) (див.рис.1, III(1) та II(1)). Якщо максимальне за умов наших дослідів розслаблення судинної смужки щура $81,135\%$, то пригнічення вазодилаторних ефектів флокаліну норадреналіном становить $8,49\%$ (див. рис.3).

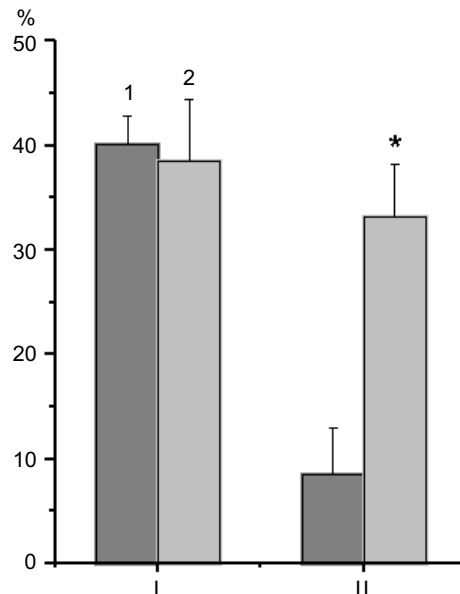


Рис. 3. Залежність ступеня інгібування вазодилаторних ефектів флокаліну вазоконстрикторними впливами різного генезу на препаратах аорти щурів: 1 – контроль; 2 – тварини з діабетом; I – ангіотензин II, II – норадреналін. $P < 0,002$

Вазодилататорні ефекти флокаліну (0,1 ммоль/л) в аорті щурів із ЦД на фоні норадреналінової вазоконстрикції становили у середньому $42,05 \% \pm 5,1 \%$ ($P < 0,00001$; $n=11$) від вихідного рівня, що було значно меншим за його ефекти на фоні гіперкалієвої деполяризації – $62,94 \% \pm 2,56 \%$ ($P < 0,00001$; $n=9$), (див. рис.1). Достовірна відмінність результатів вазодилататорних ефектів флокаліну на фоні норадреналінової та гіперкалієвої деполяризації становить $P < 0,003$. Тобто, якщо максимальне розслаблення смужки аорти при ЦД $62,94 \%$, то пригнічення вазодилататорних ефектів флокаліну норадреналіном у хворих тварин становить $33,19 \%$ (див. рис.3), що є значно більшим порівняно з пригніченням у здорових щурів – $8,49 \%$. Достовірність між ними становить $P < 0,002$. Тобто, при ЦД, викликаному введенням стрептозоточину, норадреналін значно сильніше порівняно з контролем пригнічує вазодилататорний ефект флокаліну, а саме у 3,91 раза (див. рис.3, II). Механізми цього явища залишаються нез'ясованими. Не виключено, що йдеться про конкуренцію між двома різноспрямованими стимулами, однак більш імовірно, що опосередковано – через систему внутрішньоклітинних месенджерів – норадреналін спричинює пригнічення активності K_{ATP} -каналів. Цей факт встановлено для ангіотензину II, який, впливаючи на гладеньком'язові клітини, активує протеїнкіназу С, яка спричинює зменшення виходу K^+ крізь K_{ATP} -канали [19].

У попередніх дослідженнях [4] ми виявили, що в аорті морської свинки вазодилататорні ефекти флокаліну (0,1 ммоль/л) на фоні норадреналінової вазоконстрикції суттєво зменшені – на $27,63 \%$. У цій роботі показано, що в аорті щура зменшення вазодилататорних ефектів флокаліну норадреналіном є незначним – $8,49 \%$. Отже, якщо в морських свинок норадреналін зменшує вазодилататорні ефекти флокаліну, а значить пригнічує досить сут-

тєво, активність K_{ATP} -каналів то у щурів це зменшення і вплив на активність K_{ATP} -каналів є незначним.

Таким чином, у щурів з діабетом вазодилататорні ефекти активатора K_{ATP} каналів флокаліну є послабленими та залежать від природи початкового підвищення тону. При невеликих (до 10 ммоль/л) концентраціях флокаліну його ефекти на фоні гіперкалієвої деполяризації практично не відрізнялись у здорових тварин і тварин із ЦД, тоді як при збільшенні концентрації флокаліну ми спостерігали суттєве зменшення його ефектів на препаратах аорти тварин із ЦД порівняно з контролем. Пригнічення вазодилататорних ефектів флокаліну і, таким чином, активності K_{ATP} -каналів норадреналіном у щурів із ЦД значно посилюється та становить $33,19 \%$, а розвиток діабету, викликаного введенням стрептозоточину не змінює пригнічення вазодилататорних ефектів флокаліну ангіотензином II, яке становить $38,45 \%$. Складний характер порушення реактивності судинної стінки при ЦД відносно вазоактивних агентів та активатора K_{ATP} -каналів флокаліну зумовлює необхідність проведення подальших досліджень.

ВИСНОВКИ

1. У щурів із ЦД вазоконстрикторні ефекти норадреналіну, ангіотензину II та калієвої деполяризації практично не відрізняються від такі у здорових тварин. Вазодилататорні ефекти активатора K_{ATP} -каналів флокаліну у щурів із ЦД є зменшеними порівняно з контролем і залежать від природи початкового підвищення судинного тону.

2. Вазодилататорні ефекти флокаліну у щурів із ЦД на фоні гіперкалієвої деполяризації при невеликих (до 10 ммоль/л) концентраціях активатора практично не відрізняються від контролю, тоді як по-

дальше збільшення концентрації флокаліну призводило до суттєвого зменшення його ефектів.

3. Виявлено, що у щурів із ЦД пригнічення вазодилаторних ефектів флокаліну, тобто активності $K_{\text{ATФ}}$ -каналів, норадреналіном суттєво посилюється. Водночас розвиток ЦД не змінює ефект ангіотензину II, який пригнічує активність $K_{\text{ATФ}}$ -каналів.

**R.B.Strutinskiy, O.O.Moybenko, S.N.Pyovovar,
V.E.Dosenko, L.M.Yagupolskii**

ATP-SENSITIVE K^+ CHANNELS AND CHANGES IN THEIR FUNCTIONAL ACTIVITIES UNDER STREPTOZOCIN-INDUCED DIABETES MELLITUS

Attenuation in the vasodilatory effects of a new synthesized opener of ATP-sensitive K^+ channels on isolated aorta strips of rat has been shown under experimental (streptozocin-induced) diabetes mellitus. The level of that attenuation depended on the nature of initial vasoconstriction. The most pronounced decrease - 43.34% as compared to the control responses in healthy rats, we observed after norepinephrine-induced vasoconstriction. Following preliminary angiotensin-induced vasoconstriction and potassium depolarization, attenuation in vasoconstriction was 20.37 % and 22.4 %, respectively. Norepinephrine inhibited vasodilator effects of phloccalin in the aorta of diabetic rats much more significantly, as compared to those after potassium depolarization. Inhibitory effects of angiotensin II in rats with diabetes mellitus did not differ from those in the control rats. At the same time, constrictory responses to biological active agents were preserved and they did not differ from those in control rats. We suggest that impairment in vascular reactivity under diabetes mellitus, at least in part, depends on the changes in the functioning of ATP-sensitive potassium channels.

*A.A.Bogomoletz Institute of Physiology
National Academy of Science of Ukraine, Kiev*

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Балаболкин М.И. Диабетология. – М.: Медицина, 2000. – 672 с.
2. Баранов В.Г. Экспериментальный сахарный диабет. – Л.: Наука, 1983. – 240 с.
3. Струтинський Р.Б., Мойбенко О.О., Ягупольський Л.М. та ін. Дослідження кардіопротекторних ефектів нового фтормісного активатора АТФ-залежних калієвих каналів // Фізіол. журн. – 2001. – 47, №2. – С.16–23.
4. Струтинський Р.Б., Мойбенко О.О. Моделювання активності АТФ-залежних калієвих каналів у аорті нормотензивних та гіпертензивних тварин // Там само. – 2000. – 46, №6. – С.54–60.
5. Ashcroft F.M., Rorsman P. ATP-sensitive K^+ channels: A link between β -cell metabolism and insulin secretion // Biochem. Soc. Trans. – 1990. – №18. – P.109–111.
6. Bouchard J.F., Dumont E.C., Lamontagne D. Modification of vasodilator response in streptozotocin-induced diabetic rat // Can. J. Physiol. Pharmacol. – 1999. – 77, №12. – P. 980–985.
7. Cameron N.E., Cotter M.A. Impaired contraction and relaxation in aorta from streptozotocin-diabetic rats: role of polyol pathway // Diabetologia. – 1992. – 35, №1. – P.1011–1019.
8. Carmines P.K., Ohishi K. Renal arteriolar contractile responses to angiotensin II in rats with poorly controlled diabetes mellitus // Clin. Exp. Pharmacol. Physiol. – 1999. – 26, №11. – P.877–882.
9. Dellsperger K.C. Potassium channels and coronary circulation // Ibid. – 1996. – 23, №12. – P.1096–1101.
10. Fukao M., Hattori Y., Kanno M. et al. Alterations in endothelium-dependent hyperpolarization and relaxation in mesenteric arteries from streptozotocin-induced diabetic rats // Brit. J. Pharmacol. – 1997. – 121. – P.1383–1391.
11. Hardy G., Stanke-Labesque F., Peoc'h M. et al. Cysteinyl leukotrienes modulate angiotensin II constrictor effects on aortas from streptozotocin-induced diabetic rats // Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol. – 2001. – 21. – P.1751–1758.
12. Head R., Longhurst P.A., Panek R.L., Stitzel R.E. A contrasting effect of the diabetic state upon the contractile responses of aortic preparations from the rat and rabbit // Brit. J. Pharmacol. – 1987. – 91. – P. 275–286.
13. Ikenaga H., Bast J/P., Fallet R/W., Carmines P/K. Exaggerated impact of ATP-Sensitive K^+ channels on afferent arteriolar diameter in diabetes mellitus // J. Amer. Soc. Nephrol. – 2000. – 11. – P.1199–1207.
14. Kalantarina K., Sigary H.M. The choice of antihypertensive drugs in patients with diabetes: angiotensin II and beyond // Curr. Diab. Rep – 2002. – 2, №5. – P.423–430.
15. Katnic C., Adams D.J. An ATP-sensitive potassium conductance in rabbit arterial endothelial cell // J. Physiol. – 1995. – 485, №3. – P.595–606.
16. Kawaki J., Nagashima K., Tanaka J. et al. Unresponsiveness to glibenclamide during chronic treatment induced by reduction of ATP-sensitive K^+ channels activity // Diabetes. – 1999. – 48. – P.2001–2006.
17. Kersten J. R., Brooks L. A., Dellsperger K. C. Impaired microvascular response to graded coronary occlusion in diabetic and hyperglycemic dogs // Amer. J. Physiol. Heart. Circ. Physiol. – 1995. – 268. – P.1667–1674.
18. Kobayashi T., Kamata Katsuo. Effect of insulin treatment on smooth muscle contractility and endothelium-dependent relaxation in rat aortae from established STZ-induced diabetes // Brit. J. Pharmacol. – 1999. – 127. – P. 835–842.
19. Kubo M., Quayle J.M., Standen N.B. Angiotensin II in-

- hibition of ATP-sensitive K^+ currents in rat arterial smooth muscle cells through protein kinase C // *J. Physiol.* – 1997. – **503**, №3. – P.489 – 496.
20. Kuo L., Chancellor J.D. Adenosine potentiates flow-induced dilatation of coronary arterioles by activating K_{ATP} channels in endothelium // *Amer. J. Physiol.* – 1995. – **269**, №2. – P.H541 – H549.
 21. Liu Y., Gutterman D.D. The coronary circulation in diabetes: influence of reactive oxygen species on K^+ channel-mediated vasodilation // *Vascul. Pharmacol.* – 2002. – **38**, №1. – P.43 – 49.
 22. Maczewski M., Beresewicz A. Inhibitors of nitric oxide synthesis and ischemia/reperfusion attenuate coronary vasodilator response to pinacidil in isolated rat heart // *J. Physiol. Pharmacol.* – 1997. – **48**, №4. – P. 737 – 749.
 23. Mahmoudian M., Mirkhani H. Effect of diazoxide, an ATP-dependent potassium-channel opener, on isolated aortae of normal and diabetic rats // *Gen. Pharmacol.* – 1998. – **31**, №4. – P.569 – 571.
 24. Mayhan W.G. Constrictor responses of the rat basilar artery during diabetes mellitus // *Brain Res.* – 1998. – **783**, №2. – P.326 – 331.
 25. Misurski D.A., Robert L. Hopfner, Venkat Gopalakrishnan. Attenuated agonist evoked vasoconstrictor responses in the perfused mesenteric vascular bed of streptozotocin diabetic rats // *Exp. Biol. and Med.* – 2001. – **226**, №10. – P. 940 – 946.
 26. Miura H., Wachtel R.E., Loberiza F.R. et al. Diabetes Mellitus Impairs Vasodilation to Hypoxia in Human Coronary Arterioles: Reduced Activity of ATP-Sensitive Potassium Channels // *Circulat. Res.* – 2003. – **92**. – P.151 – 158.
 27. Miyoshi Y., Nakaya Y., Wakatsuki T. et al. Endothelin blocks ATP-sensitive K^+ channels and depolarizes smooth muscle cells of porcine coronary artery // *Ibid.* – 1992. – **70**. – P.612 – 616.
 28. Noma A. ATP-regulated K^+ channels in cardiac muscle // *Nature.* – 1983. – **305**, №5930. – P.147 – 148.
 29. Orié N.N., Aloamaka C.P. Duration-dependent variability in the responses of diabetic rat aorta to norepinephrine and 5-hydroxytryptamine // *Gen. Pharmacol.* – 1993. – **24**, №1. – P.243 – 246.
 30. Quayle J.M., Nelson M.T., Standen N.B. ATP-sensitive and inwardly rectifying potassium channels in smooth muscle // *Physiol. Rev.* – 1997. – **77**, №4. – P.1165 – 1232.
 31. Sheykhzade M., Dalsgaard G.T., Johansen T., Nyborg B. The effect of long-term streptozotocin-induced diabetes on contractile and relaxation responses of coronary arteries: selective attenuation of CGRP-induced relaxations // *Brit. J. Pharmacol.* – 2000. – **129**. – P. 1212–1218.
 32. Sobey C.G. Potassium channel function in vascular disease // *Arterioscler. Tromb. Vasc. Biol.* – 2001. – **21**. – P. 28 – 38.
 33. Taylor P.D., Graves J.E., Poston L. Selective impairment of acetylcholine-mediated endothelium-dependent relaxation in isolated resistance arteries of the streptozotocin-induced diabetic rat // *Clin. Sci. (Lond.)* – 1995. – **88**, №5. – P. 519 – 524.
 34. Trapp S., Ashcroft F.M. A metabolic sensor in action: news from the ATP-sensitive K^+ channel // *News. Physiol. Sci.* – 1997. – №12. – P.255 – 263.
 35. Van Buren T., Vleeming W., Krutzen M.M. et al. Vascular responses of isolated mesenteric resistance and basilar arteries from short- and long-term diabetic rats // *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol.* – 1998. – **358**, №6. – P.663 – 670.
 36. Wakatsuki T., Nakaya Y., Inoue I. Vasopressin modulates K^+ -channel activities of cultured smooth muscle cells from porcine coronary artery // *Amer. J. Physiol.* – 1992. – **263**. – (*Heart Circ Physiol.* 32), №2. – P.H491 – H496.
 37. Yokoshiki H., Sunagawa M., Seki T., Sperelakis N. ATP-sensitive K^+ channels in pancreatic, cardiac, and vascular smooth muscle cells // *Amer. J. Physiol. Cell. Physiol.* – 1998. – **274**. – P.25 – 37.
 38. Zimmermann P.A., Knot H.J., Stevenson A.S., Nelson M.T. Increased myogenic tone and diminished responsiveness to ATP-Sensitive K^+ channel openers in cerebral arteries from diabetic rats. // *Circulat. Res.* – 1997. – **81**. – P.996 – 1004.

*Ин-т фізіології ім. О.О.Богомольця НАН України,
Київ*

*Матеріал надійшов до
редакції 25.09.2003*