

О.І.Бондаренко

Електричні реакції інтактних і культивованих ендотеліальних клітин при дії активаторів аденозинтрифосфатчутливих калієвих каналів

Исследовано влияние активатора аденозинтрифосфатчувствительных калиевых ($K_{ATФ}$) каналов пинацидила на мембранный потенциал интактных эндотелиальных клеток изолированной аорты крысы и на культивированные эндотелиальные клетки человеческой пупочной вены. Показано, что пинацидил вызывает гиперполяризацию клеток эндотелия изолированной аорты крысы амплитудой $15\text{ мВ} \pm 4\text{ мВ}$ от потенциала покоя $-44\text{ мВ} \pm 1\text{ мВ}$, в то время как в культивируемых клетках эндотелия пуповины он не вызывал существенных изменений мембранного потенциала. Другой активатор $K_{ATФ}$ -каналов диазоксид в половине исследуемых культивируемых эндотелиальных клеток вызывал гиперполяризацию средней амплитудой 3 мВ . Сделан вывод, что высокая чувствительность мембранного потенциала интактных эндотелиальных клеток к активаторам $K_{ATФ}$ -каналов может быть мощным сигнальным механизмом, модулирующим функцию клеток эндотелия при действии этих агентов.

ВСТУП

Вазоактивні агоністи викликають комплексні зміни мембранного потенціалу ендотеліальних клітин [1, 23], що тісно пов'язані зі змінами концентрації внутрішньоклітинного Ca^{2+} [34]. Функції ендотелію (вивільнення вазоактивних речовин, регуляція проникності судинної стінки тощо) значною мірою регулюються концентрацією вільного внутрішньоклітинного Ca^{2+} , що підвищується під час гіперполяризації. Таким чином, електрична активність ендотеліальних клітин має великий вплив на функціональну активність ендотелію.

АТФ-чутливі калієві ($K_{ATФ}$) канали плазматичної мембрани експресуються багатьма типами клітин і функціонально пов'язують зміни клітинного метаболізму зі змінами мембранного потенціалу. Вони пригнічуються за наявності мілімолярної концентрації АТФ у цитозолі, а також препаратами сульфонілсечовини (глібенкламід і толбутамід), що застосовуються в

клінічній практиці для лікування діабету II типу, оскільки деполаризують β -клітини, що призводить до стимуляції надходження до них Ca^{2+} через потенціалкеровані кальцієві канали і, таким чином, до стимуляції секреції інсуліну. $K_{ATФ}$ -канали активуються багатьма біологічно активними речовинами. В експериментальних умовах ці канали активують зниженням концентрації внутрішньоклітинного АТФ, а також активаторами $K_{ATФ}$ -каналів і гіпоксією [8, 10, 15, 19, 28]. Судинні $K_{ATФ}$ -канали задіяні в реалізацію вазомоторного ефекту аденозину [27], ω -3 жирних кислот [13], а також у розвиток експериментальної гіпертензії [16] і судинних порушень при цирозі печінки [21] та інших станах.

Активатори калієвих каналів є ефективними вазодилаторами й об'єктом інтенсивних досліджень у галузі створення нових кардіопротекторних і антигіпертензивних препаратів [4, 5, 25]. Проте механізми, що забезпечують вазодилатацію під їх впливом,

© О.І.Бондаренко

досліджені недостатньо. Добре відомо, що дія цих речовин супроводжується гіперполяризацією судинних гладеньком'язових клітин як ізольованих [11], так і *in situ* [21]. Гіперполяризація гладеньком'язових клітин судинних смужок під час дії активаторів $K_{AT\Phi}$ -каналів мало залежить від наявності ендотелію та забезпечує пригнічення надходження Ca^{2+} в міоцити через Cav1.2-канали, що в свою чергу зменшує кальційіндуковане вивільнення Ca^{2+} із саркоплазматичного ретикулула та релаксацію судин [10, 28, 29]. Тому деякі дослідники основним механізмом релаксації під впливом активаторів $K_{AT\Phi}$ -каналів вважають стимуляцію цього типу каналів саме гладеньком'язових клітин [6, 10, 28, 29].

На відміну від судинних гладеньком'язових клітин, наявність $K_{AT\Phi}$ -каналів у ендотеліальних клітинах не є загальнопідтвердженим фактом. Так, деякі автори ставлять під сумнів активність $K_{AT\Phi}$ -каналів у плазматичній мембрані ендотеліальних клітин [24, 26, 35], тоді як інші дослідники таку активність продемонстрували [18, 20, 22, 31]. Експериментальні дані, зібрані за допомогою реєстрації скоротливої активності ізольованих судинних смужок, свідчать про те, що $K_{AT\Phi}$ -канали задіяні у гіпоксичній вазодилатації [15, 37], яка в свою чергу модулюється ендотелієм [33, 37], що вказує на залучення ендотеліального шару в опосередкованні відповідей на гіпоксію. Більше того, в деяких роботах виявлений ендотеліозалежний компонент розслаблення під час дії активаторів $K_{AT\Phi}$ -каналів [12, 14, 36], що підсилює інтерес до ролі ендотелію в модуляції вазомоторики під час дії цих речовин. Дослідження змін електричних властивостей ендотеліальних клітин під впливом активаторів $K_{AT\Phi}$ -каналів і гіпоксії, з оглядом на значення мембранного потенціалу в регуляції функцій ендотелію, дали б змогу суттєво розширити уявлення щодо механізмів вазорегуляції під час дії цих факторів та можливе залучення ендотеліальних $K_{AT\Phi}$ -каналів у ендотеліальну дисфункцію.

Мета нашої роботи полягала в дослідженні електричних реакцій інтактних і культивованих ендотеліальних клітин на активатори $K_{AT\Phi}$ -каналів і в їх порівнянні з електричними реакціями у відповідь на класичні ендотеліозалежні вазодилатори ацетилхолін і гістамін.

МЕТОДИКА

Дослідження проведено на ендотеліальних клітинах *in situ* аорти щурів віком 3–4 міс, а також на лінії ендотеліальних клітин пупкової вени людини EA.hy926. Вивчаючи ендотеліальні клітини *in situ*, грудну частину аорти ізольовали, нарізали на сегменти довжиною 3–4 мм, які розрізали вздовж і закріплювали в камері об'ємом близько 100 мкл, яку суперфузували розчином такого складу (ммоль/л): NaCl – 145, KCl – 5, $MgCl_2$ – 1,2, $CaCl_2$ – 2,5, глюкоза – 10, HEPES – 10 із швидкістю 1 мл/хв. Мембранний потенціал реєстрували методом перфорованого patch-clamp у режимі фіксації струму [1]. Піпетки заповнювали таким розчином (ммоль/л): KCl – 140, NaCl – 10, HEPES – 10, до якого додавали ністатин (200 мкг/мл).

Лінію ендотеліальних клітин EA.hy926, що має походження з пупкової вени людини, вирощували у культуральному середовищі Ігла в модифікації Дюльбекко (DMEM) з додаванням 10% телячої сироватки та 5 мг/л глюкози. Експерименти проводили на поодиноких клітинах наступної доби після перенесення клітин на накривне скло у чашці Петрі. Накривне скло з розташованими на ньому клітинами фіксували в експериментальній камері, яку суперфузували розчином, склад якого наведено вище. Всі експерименти проводили при 22–24° С.

РЕЗУЛЬТАТИ

Дослідження електричних реакцій ендотеліальних клітин ізольованої аорти щурів. Суперфузія судинної смужки розчином, що

містив активатор $K_{ATФ}$ -каналів пінацидил (30 мкмоль/л) викликала гіперполяризацію ендотеліальних клітин амплітудою $15 \text{ мВ} \pm 4 \text{ мВ}$ ($n=4$) від потенціалу спокою $-44 \text{ мВ} \pm 1 \text{ мВ}$. Гіперполяризація у відповідь на пінацидил сягала максимуму впродовж $136 \text{ с} \pm 6 \text{ с}$ ($n=4$) і мала монофазний пролонгований характер (рис. 1,а). Так, упродовж 10 хв амплітуда гіперполяризації практично не змінювалася (див. рис.1,а,в). Реперфузія судинні смужки розчином, що не містив пінацидил, призводила до повернення значень мембранного потенціалу до рівня спокою.

Суперфузія судинної смужки розчином, що містив ацетилхолін (2 мкмоль/л), який,

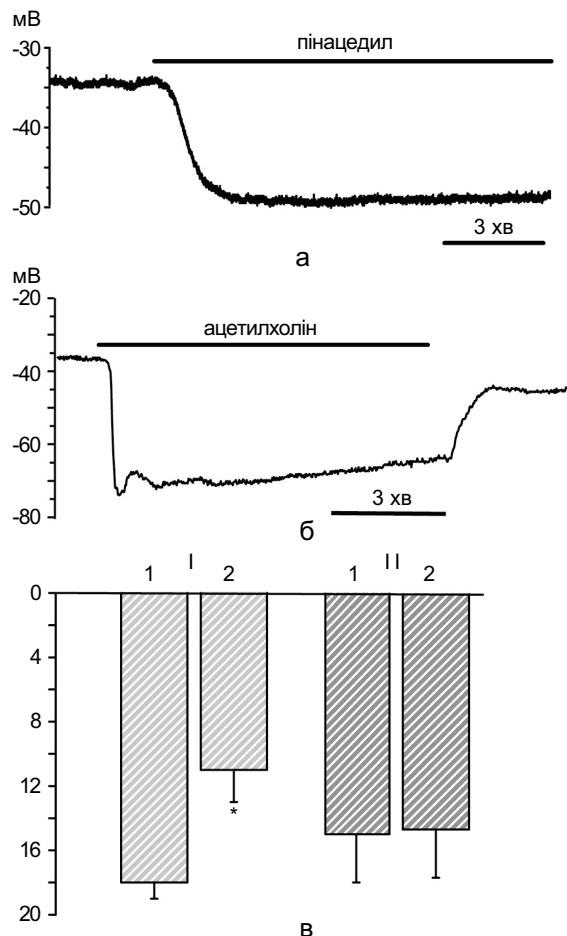


Рис. 1. Вплив пінацидилу (а) та ацетилхоліну (б) на мембранний потенціал клітин інтактного ендотелію аорти щурів, в – часова залежність амплітуди гіперполяризації на ацетилхолін (I) і пінацидил (II): 1 – пікова амплітуда, 2 – амплітуда на 10-й хвилині гіперполяризації

як відомо, викликає підвищення концентрації внутрішньоклітинного Ca^{2+} і стимуляцію кальційзалежних калієвих (K_{Ca}) каналів ендотеліальних клітин, призводила до вираженої двофазної гіперполяризації – транзійтної та пролонгованої (див. рис. 1,б). Амплітуда транзійтної гіперполяризації становила $18 \text{ мВ} \pm 1 \text{ мВ}$ і сягала максимуму впродовж $17 \text{ с} \pm 2 \text{ с}$ ($n=6$), за якою розвивалася пролонгована гіперполяризація. Впродовж 10 хв амплітуда пролонгованої гіперполяризації зменшувалася до $11 \text{ мВ} \pm 2 \text{ мВ}$ ($n=9$; див. рис. 1,б,в). Таким чином, інтактні ендотеліальні клітини аорти щурів відповідають суттєвою гіперполяризацією як на активатор $K_{ATФ}$ -каналів пінацидил, так і на класичний ендотелійзалежний вазодилататор ацетилхолін, що реалізує свій ефект завдяки стимуляції K_{Ca} -каналів. Проте перебіги гіперполяризації у відповідь на дію пінацидилу та ацетилхоліну суттєво відрізняються.

Дослідження електричних реакцій EA.hy926 ендотеліальних клітин. В експериментах, проведених на EA.hy926-клітинах, середнє значення мембранного потенціалу в умовах спокою становило $-37 \text{ мВ} \pm 2 \text{ мВ}$ ($n=24$). На відміну від ендотеліальних клітин *in situ*, мембранний потенціал EA.hy926-клітин не змінювався суттєво під дією 30 мкмоль/л пінацидилу ($\Delta V = 1,2 \text{ мВ}$, $n=7$). Із 10 клітин, на яких досліджувався вплив іншого активатора $K_{ATФ}$ -каналів, діазоксиду (100 мкмоль/л), гіперполяризацією середньою амплітудою $3,0 \text{ мВ} \pm 1,2 \text{ мВ}$ відповіли лише 5, мембранний потенціал спокою яких становив $-29,0 \text{ мВ} \pm 1,3 \text{ мВ}$ (рис. 2,а). У решти клітин мембранний потенціал під час дії діазоксиду не змінювався. Гіперполяризація сягала максимуму впродовж $106 \text{ с} \pm 15 \text{ с}$ ($n=5$) та була монофазною. Ремпові зсуви потенціалу в режимі його фіксації показали, що діазоксид викликає вихідний струм, потенціал реверсії якого становить близько -35 мВ (див. рис. 2,б).

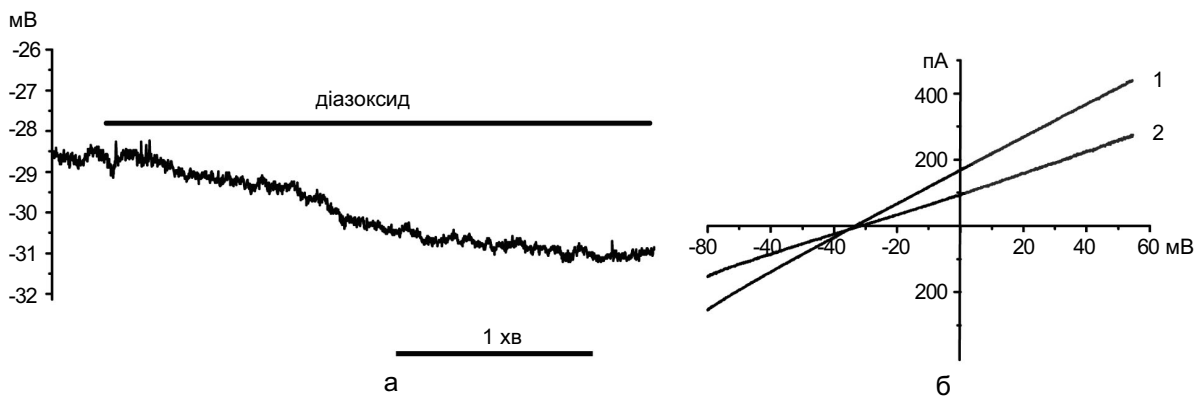


Рис. 2. Вплив діазоксиду на мембранний потенціал культивованих ендотеліальних клітин EA.hy926 (а) та трансмембранні іонні струми, викликані ремповими зсувами потенціалу від -80 до 60 мВ впродовж 1 с (б): 1 – контроль, 2 – після додавання діазоксиду

Суперфузія ендотеліальних EA.hy926-клітин розчином, що містив ендотелійзалежний вазодилатор гістамін (100 мкмоль/л) викликав двофазну гіперполяризацію з середньою амплітудою $25 \text{ мВ} \pm 5 \text{ мВ}$ ($n=26$) від потенціалу спокою $-37 \text{ мВ} \pm 2 \text{ мВ}$ (рис. 3,а), що супроводжується вихідним струмом (див. рис. 3,б). Ремпові зсуви потенціалу показали, що гістамін викликає вихідний струм, потенціал реверсії якого становить близько -70 мВ , показник, що є наближеним до калійрівноважного потенціалу (див. рис. 3,в). Таким чином, на відміну від інтактних ендотеліальних клітин аорти щурів, мембранний потенціал ендотеліальних клітин культури EA.hy926 є малочутливим до пінацидилу та діазоксиду в діапазоні потенціалу спокою (-30 – -35 мВ), проте відповідає потужною гіперполяризацією на ендотелійзалежний вазодилатор гістамін.

ОБГОВОРЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ

У роботі досліджено вплив активаторів K_{ATP} -каналів і ендотелійзалежних вазодилаторів на електричні реакції інтактних ендотеліальних клітин ізольованої аорти щурів та лінії ендотеліальних клітин EA.hy926. Показано, що пінацидил викликає суттєву гіперполяризацію інтактних ендотеліальних клітин, амплітуда якої ста-

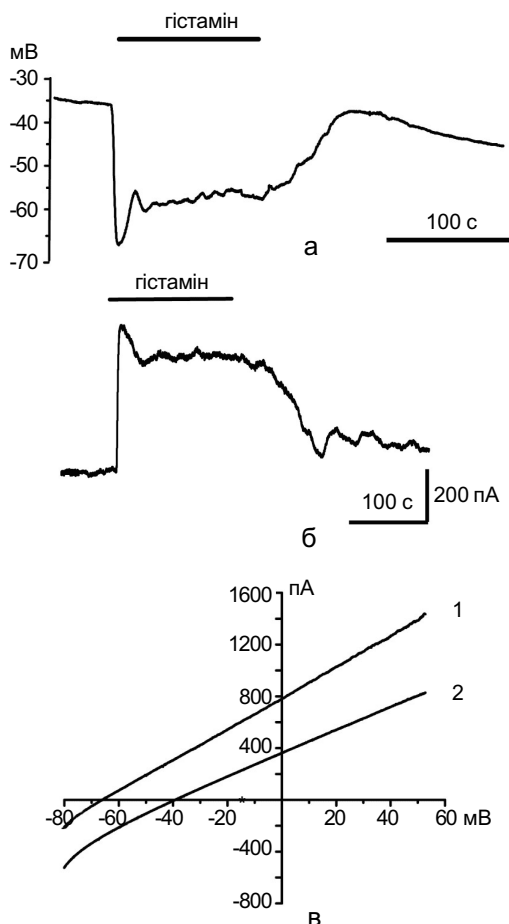


Рис. 3. Вплив гістаміну на мембранний потенціал культивованих ендотеліальних клітин EA.hy926 (а) та трансмембранні іонні струми при потенціалі підтримки -40 мВ (б), в – трансмембранні іонні струми, викликані ремповими зсувами потенціалу від -80 до 60 мВ впродовж 1 с: 1 – контроль, 2 – після додавання гістаміну

новила в середньому 15 мВ, в той час як амплітуда гіперполяризації під час дії ацетилхоліну була ненабагато більше – 18 мВ. Оскільки гіперполяризація ендотеліальних клітин збільшує електрохімічний градієнт для Ca^{2+} , електрорушійна сила для надходження зовнішньоклітинного Ca^{2+} в ендотелій під час дії пінацидилу, таким чином, сягає такої, що розвивається під час дії ацетилхоліну. Це є важливим спостереженням, що може лежати в основі стимуляції кальційзалежних процесів у ендотеліальних клітинах під час дії активаторів $\text{K}_{\text{ATФ}}$ -каналів.

Аналіз результатів свідчить про те, що перебіг гіперполяризації ендотеліальних клітин ізольованої аорти щурів у відповідь на дію пінацидилу суттєво відрізняється від такого, що викликаний дією ацетилхоліну. Так, гіперполяризація у відповідь на пінацидил була монофазною, підвищувалася та зменшувалася повільніше, ніж у відповідь на ацетилхолін. Результати досліджень свідчать, що впродовж 10 хв амплітуда гіперполяризації клітин інтактного ендотелію у відповідь на пінацидил майже не зменшується, в той час як амплітуда гіперполяризації у відповідь на дію ацетилхоліну знижується за цей період часу в середньому на 7 мВ. Пролонгований характер гіперполяризаційних відповідей на вплив пінацидилу може зумовлювати тривалість кальційзалежних процесів у ендотеліальних клітинах під час дії активаторів $\text{K}_{\text{ATФ}}$ -каналів і, таким чином, модуляцію вазомоторних реакцій. Оскільки судинні $\text{K}_{\text{ATФ}}$ -канали знаходяться, як і NO-синтаза, в кавеолах [30], цілком імовірно, що локальне збільшення електрохімічного градієнта для Ca^{2+} внаслідок відкриття $\text{K}_{\text{ATФ}}$ -каналів може призводити до локальної стимуляції NO-синтази.

Під час досліджень виявлено різний ступінь чутливості електричних відповідей лінії ендотеліальних клітин EA.hy926 та інтактних ендотеліальних клітин аорти

щурів до активаторів $\text{K}_{\text{ATФ}}$ -каналів. Так, на відміну від ендотеліальних клітин ізольованої аорти щурів, мембранний потенціал ендотеліальних клітин EA.hy926 суттєво не змінювався у відповідь на дію пінацидилу. Майже половина з дослідних EA.hy926-клітин не відповідала змінам мембранного потенціалу на діазоксид. В решті клітин мембранний потенціал змінювався всього на декілька мілівольт. Ремпові зсуви потенціалу в цих клітинах показали, що діазоксид викликає вихідний струм, потенціал реверсії якого становить близько -35 мВ. Вхідний струм, активований діазоксидом при негативних потенціалах, узгоджується з таким, що опосередковується $\text{K}_{\text{ATФ}}$ -каналами [8, 31].

На відміну від активаторів $\text{K}_{\text{ATФ}}$ -каналів, класичний ендотелійзалежний вазодилататор гістамін, що реалізує свій ефект завдяки стимуляції K_{Ca} -каналів ендотеліальних клітин, викликав потужну двофазну гіперполяризацію культивованих клітин, що супроводжувалася вихідним струмом при потенціалі підтримки -40 мВ. На відміну від діазоксид-, гістамін-активованого струму, викликаний ремповими зсувами потенціалу в діапазоні від -80 до +60 мВ реверсується в межах калієвого рівноважного потенціалу, що свідчить про те, що гістамін і діазоксид викликають різні типи іонної провідності в мембрані ендотеліальних клітин. Таким чином, експерименти, проведені за допомогою зсувів потенціалу, вказують на те, що при деполіризації ендотелію гіперполяризувальний ефект діазоксиду є більшим. Це узгоджується також із експериментами, проведеними в режимі фіксації струму, а саме із спостереженням, що середнє значення мембранного потенціалу ендотеліальних клітин артерії пуповини, які відповідали на дію діазоксиду (-29 мВ), суттєво нижче від середнього значення мембранного потенціалу всіх досліджених ендотеліальних клітин EA.hy926 (-37 мВ). Раніше ми показали, що ендотеліальна

дисфункція при таких станах, як діабет [2], гіпертензія [3], а також старіння [7] супроводжується деполяризацією ендотеліальних клітин, яка, ймовірно, і лежить в основі дисфункції ендотелію, бо зменшує базальне надходження Ca^{2+} в ендотелій, а, отже, вивільнення NO. Тому слід очікувати, що активатори $\text{K}_{\text{ATФ}}$ -каналів можуть мати більш виражений вплив на ендотеліальні клітини, мембранний потенціал яких менше негативний, тобто нормалізувати функцію ендотелію. Це може мати велике значення для застосування цих речовин у терапевтичній практиці, особливо враховуючи пролонгований характер електричних відповідей на дію активаторів $\text{K}_{\text{ATФ}}$ -каналів.

Варіабельність амплітуди гіперполяризації серед інтактних ендотеліальних клітин аорти та ендотеліальних клітин EA.hy926 у відповідь на активатори $\text{K}_{\text{ATФ}}$ -каналів може пояснюватися різною щільністю $\text{K}_{\text{ATФ}}$ -каналів у ендотеліальних клітинах різних джерел, а також негативним впливом умов культивування на їх експресію. Серед EA.hy926-клітин, які не відповідали на дію пінацидилу і діазоксиду, були і клітини з досить низьким мембранним потенціалом, тобто близькість мембранного потенціалу в умовах спокою до потенціалу реверсії $\text{K}_{\text{ATФ}}$ -активованого струму не є основною причиною відсутності ефекту активаторів $\text{K}_{\text{ATФ}}$ -каналів на мембранний потенціал EA.hy926 клітин.

Слід також враховувати, що гіперполяризація ендотеліальних клітин ізольованих судинних смужок при дії активаторів $\text{K}_{\text{ATФ}}$ -каналів може бути зумовлена як стимуляцією $\text{K}_{\text{ATФ}}$ -каналів безпосередньо плазматичної мембрани ендотеліальних клітин, так і електротонічною передачею гіперполяризації від гладеньком'язових клітин через міоендотеліальні електричні контакти [9, 26, 35], чи бути наслідком суперпозиції ефектів на обидва типи клітин, в той час як ефект активаторів на культивовані

ендотеліальні клітини реалізується тільки завдяки стимуляції $\text{K}_{\text{ATФ}}$ -каналів саме ендотеліальних клітин. Але яким би не був механізм дії активаторів на мембранний потенціал ендотеліальних клітин ізольованих судин: безпосередньо активуючи $\text{K}_{\text{ATФ}}$ -канали плазмолемі ендотелію чи внаслідок суперпозиції ефектів на ендотеліальні та гладеньком'язові клітини – результатом є гіперполяризація ендотеліальних клітин, яка збільшує електрохімічний градієнт для іонів кальцію, що може призводити до стимуляції їх надходження у клітини, а також транспорту L-аргініну [38].

Представлені результати переконливо доводять, що стимуляція судинних $\text{K}_{\text{ATФ}}$ -каналів викликає гіперполяризацію ендотеліальних клітин ізольованої аорти щурів, перебіг якої відрізняється від гіперполяризаційної відповіді при дії класичних ендотеліозалежних вазодилаторів. У роботі показано, що існують суттєві відмінності у чутливості мембранного потенціалу інтактних і культивованих ендотеліальних клітин до дії активаторів $\text{K}_{\text{ATФ}}$ -каналів. Пролонгованість і порівняно велика амплітуда гіперполяризації інтактних клітин у відповідь на дію пінацидилу вказує на те, що гіперполяризація ендотеліальних клітин може бути важливим сигнальним механізмом у реалізації вазомоторного ефекту під час стимуляції $\text{K}_{\text{ATФ}}$ -каналів, а потенціалзалежність струму вказує на можливу роль активаторів у нормалізації функції ендотелію при станах, що супроводжуються ендотеліальною дисфункцією та деполяризацією клітин. Таким чином, результати роботи свідчать про роль ендотелію в реалізації впливу активаторів цього типу іонної провідності, а також, враховуючи варіабельність електричних реакцій ендотеліальних клітин під час дії цих агентів, – про необхідність оцінки змін електричних властивостей ендотеліальних клітин під час тестування ефективності нових аналогів активаторів калієвих каналів

з метою пошуку нових підходів в нормалізації функцій судинного ендотелію.

A.I. Bondarenko

DIFFERENCES IN MEMBRANE POTENTIAL SENSITIVITY TO POTASSIUM CHANNEL OPENERS AND HYPOXIA BETWEEN INTACT AND CULTURED ENDOTHELIAL CELLS

The influence of pinacidil, an activator of ATP-sensitive K⁺ channels, on the membrane potential of endothelial cells from intact rat aorta and cultured endothelial cells was investigated. Pinacidil evoked a slowly developing sustained hyperpolarization of endothelial cells from isolated artery with the amplitude of 15±4 mV from the resting membrane potential of -44±1 mV. In contrast, in cultured endothelial cells pinacidil was without response. Diazoxide, another activator of ATP-sensitive K⁺ channels, in half of the cultured cells tested, evoked a slowly developing sustained hyperpolarization with the amplitude of 3 mV. The rest of the cells studied did not respond by membrane potential changes to diazoxide. It was suggested that high sensitivity of the membrane potential of in situ endothelial cells to potassium channels openers may represent a potent signaling mechanism influencing endothelial cell function upon stimulation of vascular KATP channels.

O.O. Bogomoletz Institute of Physiology National Academy of Sciences of Ukraine, Kyiv

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

- Бондаренко А.И., Сагач В.Ф. Модуляция мембранного потенциала клеток интактного эндотелия аорты морской свинки // *Нейрофизиология*. – 1996. – **28**, №6. – С.260–266.
- Бондаренко О.І., Присяжна О.Д., Сагач В.Ф. Електричні реакції інтактного ендотелію аорти щурів при експериментальному діабеті // *Фізіол. журн.* – 2004. – **50**, №6. – С. 3–8.
- Бондаренко О.І., Сагач В. Ф. Електричні реакції ендотелію аорти щурів із спонтанною гіпертензією // *Там само.* – 2002. – **48**, №4. – С.75–79.
- Нагібін В.С., Досенко В.С., Пивовар С.М. Фторований аналог діазоксиду попереджає апоптоз неонатальних кардіоміоцитів під час аноксії-реоксигенації // *Там само.* – 2004. – **50**, №3. – С.3–8.
- Пивовар С.М., Струтинський Р.Б., Ягупольский Л.М., Мойбенко О.О. Дослідження механізмів дії нових фтормісних аналогів діазоксиду на судинний тонус // *Там само.* – 2004. – **50**, №2. – С.27–33.
- Чекман І.С., Тарасова К.В., Шевчук В.Г. Фізіологічні властивості та перспективи корекції функції аденозинтрифосфатних калієвих каналів // *Там само.* – 2008. – **54**, № 1. – С.94–107.
- Яроцкий В.В., Ткаченко М. Н. Сагач В. Ф. Электрические реакции эндотелия аорты крыс при действии ацетилхолина и АТФ в условиях старения // *Бюл. эксперим. биологии и медицины*. – 2003. – **135**, №3. – С.257–260.
- Aguilar-Bryan L., Clement J.P., Gonzalez G. et al. Toward understanding the assembly and structure of KATP channels // *Physiol Rev.* – 1998. – **78**. – P.227–245
- Bondarenko A. Sodium-calcium exchanger contributes to membrane hyperpolarization of intact endothelial cells from rat aorta during acetylcholine stimulation // *Brit. J.Pharmacol.* – 2004. – **143**. – P.9–18.
- Brayden J.E. Functional roles of KATP channels in vascular smooth muscle // *Clin. Exp. Pharmacol. Physiol.* – 2002. – **29**. – P.312–316.
- Bychkov R., Gollasch M., Ried C. et al. Effects of pinacidil on K⁺ channels in human coronary artery vascular smooth muscle cells // *Amer. J. Physiol.* – 1997. – **273**. – C161–C171.
- DrieuLaRochelle C., Richard V., Dubois-Rande J.L. et al. Potassium channel openers dilate large epicardial coronary arteries in conscious dogs by an indirect, endothelium-dependent mechanism // *J. Pharmacol. Exp. Therap.* – 1992. – **263**. – P.1091–1096.
- Engler M.B., Engler M.M. Docosahexaenoic acid-induced vasorelaxation in hypertensive rats: mechanisms of action // *Biol. Res. Nurs.* – 2000. – **2**. – P.85–95.
- Feleder E.C., Adler-Graschinsky E. Endothelium-mediated and N omega-nitro-L-arginine methyl ester-sensitive responses to cromakalim and diazoxide in the rat mesenteric bed // *Eur. J. Pharmacol.* – 1997. – **319**. – P.229–238.
- Gasser R., Klein W., Kickenweiz E. Vasodilative response to hypoxia and simulated ischemia is mediated by ATP-sensitive K⁺ channels in guinea pig thoracic aorta // *Angiology*. – 1993. – **44**. – P.228–243.
- Ghosh M., Hanna S.T., Wang R., McNeill J.R. Altered vascular reactivity and KATP channel currents in vascular smooth muscle cells from deoxycorticosterone acetate (DOCA)-salt hypertensive rats // *J. Cardiovascular. Pharmacol.* – 2004. – **44**. – P.525–531.
- Janigro D., Nguyen T.S., Meno J. et al. Endothelium-dependent regulation of cerebrovascular tone by extracellular and intracellular ATP // *Amer. J. Physiol.* – 1997. – **273**. – H878–H885.
- Janigro D., West G.A., Gordon E.L., Winn H.R. ATP-sensitive K⁺ channels in rat aorta and brain microvascular endothelial cells // *Ibid.* – 1993. – **265**. – C812–C821.
- Kalsner S. Hypoxic relaxation in functionally intact cattle coronary artery segments involves K⁺ ATP channels // *J. Pharmacol. Exp. Therap.* – 1995. – **275**. – C.1219–1226.
- Katnik C., Adams D.J. Characterization of ATP-sensitive potassium channels in freshly dissociated rabbit aortic endothelial cells // *Amer. J. Physiol.* – 1997. – **272**. – H2507–H2511.
- Lahaye P., Fouassier L., Tazi K.A. et al. Endothelium-dependent blunted membrane potential responses to ATP-sensitive K⁺ channel modulators in aortae from rats with

- cirrhosis // *J. Hepatol.* – 1999. – **30**. – P.107–114.
22. Langheinrich U., Schnitzler M., Daut J. Ca²⁺-transients induced by K⁺ channel openers in isolated coronary capillaries // *Pflug. Arch.* – 1998. – **435**. – P.435–438.
23. Marchenko S.M., Sage S.O. Electrical properties of resting and acetylcholine-stimulated endothelium in intact rat aorta // *J. Physiol.* – 1993. – **462**. – P.735–751.
24. Mehrke G., Pohl U., Daut J. Effects of vasoactive agonists on the membrane potential of cultured bovine aortic and guinea-pig coronary endothelium // *J. Physiol.* – 1991. – **439**. – P. 277–299.
25. Minamino T., Hori M. Protecting endothelial function: A novel therapeutic target of ATP-sensitive potassium channel openers // *Cardiovascular. Res.* – 2007. – **73**. – P.448–449.
26. Murai T., Muraki K., Imaizumi Y., Watanabe M. Levromakalim causes indirect endothelial hyperpolarization via a myo-endothelial pathway // *Br. J. Pharmacol.* – 1999. – **128**. – P.1491–1496.
27. Olanrewaju H.A., Gafurov B.S., Lieberman E.M. Involvement of K⁺ channels in adenosine A_{2A} and A_{2B} receptor-mediated hyperpolarization of porcine coronary artery endothelial cells // *J. Cardiovascular. Pharmacol.* – 2002. – **40**. – P.43–49.
28. Quast U., Guillon J.M., Cavero I. Cellular pharmacology of potassium channel openers in vascular smooth muscle // *Cardiovascular. Res.* – 1994. – **28**. – P.805–810.
29. Quayle J.M., Nelson M.T., Standen N.B. ATP-sensitive and inwardly rectifying potassium channels in smooth muscle // *Physiol. Rev.* – 1997. – **77**. – P.1165–1232.
30. Sampson L.J., Hayabuchi Y., Standen N.B., Dart C. Caveolae localize protein kinase A signaling to arterial ATP-sensitive potassium channels // *Circulat. Res.* – 2004. – **95**. – P.1012–1018.
31. Simard J.M., Tsybalyuk O., Ivanov A. et al. Endothelial sulfonylurea receptor 1-regulated NC Ca-ATP channels mediate progressive hemorrhagic necrosis following spinal cord injury // *J. Clin. Invest.* – 2007. – **117**. – P.2105–2113.
32. Taguchi H., Faraci F.M., Kitazono T., Heistad D.D. Relaxation of the carotid artery to hypoxia is impaired in Watanabe heritable hyperlipidemic rabbits // *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* – 1995. – **15**. – P.1641–1645.
33. Taguchi H., Faraci F.M., Kitazono T., Heistad D.D. Relaxation of the aorta during hypoxia is impaired in chronically hypertensive rats // *Hypertension.* – 1995. – **25**. – P.735–738.
34. Usachev Y.M., Marchenko S.M., Sage S.O. Cytosolic calcium concentration in resting and stimulated endothelium of excised intact rat aorta // *J. Physiol.* – 1995. – **489** (Pt 2). – P.309–317.
35. White R., Hiley C.R. Hyperpolarisation of rat mesenteric endothelial cells by ATP-sensitive K⁽⁺⁾ channel openers // *Eur. J. Pharmacol.* – 2000. – **397**. – P.279–290.
36. White R., Hiley C.R. Endothelium and cannabinoid receptor involvement in levromakalim vasorelaxation // *Eur. J. Pharmacol.* – 1997. – **339**. – P.157–160.
37. Yang B.C., Mehta J.L. Critical role of endothelium in sustained arterial contraction during prolonged hypoxia // *Amer. J. Physiol.* – 1995. – **268**. – H1015–H1020.
38. Zharikov S.I., Herrera H., Block E.R. Role of membrane potential in hypoxic inhibition of L-arginine uptake by lung endothelial cells // *Ibid.* – 1997. – **272**. – L78–L84.

Ин-т фізіології ім. О.О. Богомольця НАН України, Київ
E-mail: abond01@biph.kiev.ua

Матеріал надійшов до редакції 04.11.2008