

ІНСТИТУТ ФІЗІОЛОГІЇ ІМ. О.О. БОГОМОЛЬЦЯ
НАЦІОНАЛЬНА АКАДЕМІЯ НАУК УКРАЇНИ

*Кваліфікаційна наукова
праця на правах рукопису*

СТРУТИНСЬКИЙ РУСЛАН БОРИСОВИЧ

УДК 612.17+616.12

ДИСЕРТАЦІЯ

**МЕХАНІЗМИ КАРДІОПРОТЕКТОРНОЇ ДІЇ АКТИВАЦІЇ
SUR-РЕЦЕПТОРІВ КАЛІЄВИХ КАНАЛІВ**

03.00.13 – Фізіологія людини і тварин

Подається на здобуття наукового ступеня доктора біологічних наук

Дисертація містить результати власних досліджень. Використання ідей, результатів і текстів інших авторів мають посилання на відповідне джерело
_____ Р.Б. Струтинський

Науковий консультант

Олексій Олексійович Мойбенко,

доктор медичних наук, професор,
академік НАН України

КИЇВ - 2018

АНОТАЦІЯ

Струтинський Р.Б. Механізми кардіопротекторної дії активації SUR-рецепторів калієвих каналів. – Кваліфікаційна наукова праця на правах рукопису.

Дисертація на здобуття наукового ступеня доктора біологічних наук за спеціальністю 03.00.13 – Фізіологія людини і тварин. – Інститут фізіології ім. О.О. Богомольця НАН України. – Київ, 2018.

Одним із основних ендогенних механізмів захисту організму від ішемії є активація SUR-рецепторів АТФ-чутливих калієвих (K_{ATP}) каналів. Їх особливістю є властивість відкриватися у відповідь на зниження внутрішньоклітинного вмісту АТФ нижче від мілімолярних рівнів, що дозволяє вважати цей тип каналу центральним метаболічним сенсором клітини щодо її енергозабезпечення. Незважаючи на те, що протекторна роль K_{ATP} -каналів не викликає сумнівів і їх вважають кінцевими ефektорами антиішемічного захисту, механізми кардіопротекції досі залишаються мало дослідженими.

Невідомим є поширення алельних поліморфізмів (SNPs) генів, що кодують Kir6.x та SUR-рецептори K_{ATP} -каналу у мешканців України та їх можлива роль як генетичних факторів ризику захворювань серця, зокрема серцевої недостатності. Не вивченим залишається і рівень експресії цих каналних білків у тварин різного віку, зокрема у спонтанно гіпертензивних щурів (SHR) та їх можлива роль в механізмах декомпенсації недостатності серця.

Метою роботи було дослідження впливу активації SUR-рецепторів K_{ATP} -каналів на кардіогемодинаміку та біохімічні показники за фізіологічних умов та ішемії-реперфузії міокарда, і можливого зв'язку серцевої недостатності з алельним поліморфізмом та експресією генів, що кодують ці канали.

Методи: молекулярно-генетичні (real-time PCR); електрофізіологічні (patch-clamp); досліді на клітинах HEK-293_{6.2/2A} зі стабільною гетерологічною експресією Kir6.2 і SUR2A-рецепторів, що утворюють кардіоспецифічний K_{ATP} -

канал; досліди на ізольованих мітохондріях з використанням K^+ -селективного електроду, Ca^{2+} -індукованого відкривання мітохондріальної пори та вивчення процесів окисного фосфорилування за методом полярографічного вимірювання кисню за допомогою двокамерного оксиграфа Oxygraph 2K; аноксія-реоксигенація ізольованих неонатальних кардіоміоцитів; тензометричні вимірювання на ізольованих судинних смужках; ізольоване та перфузоване за Лангендорфом серце; дослідження кардіогемодинаміки на анестезованих собаках *in vivo*; ішемія-реперфузія *in vitro* та *in vivo*; біохімічні дослідження, електронно-мікроскопічні та морфологічні дослідження; статистичний аналіз.

Результати. За допомогою молекулярно-генетичних досліджень проведено генотипування 529 жителів України щодо поширення алельних поліморфізмів Ile337Val та Glu23Lys гена KCNJ11, а також Ser1369Ala гена ABCC8, що кодують Kir6.2- та SUR1-субодиниці K_{ATP} -каналу відповідно. Розподіл генотипів Ile/Ile, Ile/Val та Val/Val за поліморфізму Ile337Val у 383 осіб становив 36,6, 46,2 та 17,2 % відповідно. Частота генотипів Glu/Glu, Glu/Lys та Lys/Lys поліморфізму Glu23Lys та генотипів Ser/Ser, Ser/Ala та Ala/Ala поліморфізму Ser1369Ala у 504 осіб складала 40,9, 44,8 та 14,3 % відповідно. Виявилося, що успадкування алельних поліморфізмів Glu23Lys та Ser1369Ala є зчепленим. Поширення поліморфізмів Ser1369Ala, Ile337Val та Glu23Lys в українській популяції відповідало закону Харді-Вайнберга та показало подібність до європейської та близькість до азійської популяцій та суттєво відрізнялось від африканської.

Виявлено, що у хворих на хронічну серцеву недостатність частота гомозигот мінорного типу є дещо зменшеною, зокрема у 1,26 (Glu23Lys та Ser1369Ala) та у 1,32 (Ile337Val) разів відповідно, що збігається з попередженням значного зростання маси лівого шлуночка (ЛШ) та її індексу. Зокрема, за генотипу Val/Val спостерігається достовірне зменшення маси ЛШ та її індексу на 27,3 та 28,4 % відповідно та індексу маси ЛШ на 22,9 % за генотипів Lys/Lys і Ala/Ala порівняно з носіями гетерозигот. Достовірним по відношенню до генотипів з гетерозиготами у двох останніх виявилось також зменшення (на 26,8 %) такого показника ехокардіографії як кінцево-діастолічний об'єм (КДО) ЛШ. Водночас найбільш

патологічні зміни таких показників як маса ЛШ, КДО ЛШ та кінцево-сistolічний об'єм ЛШ у хворих на хронічну серцеву недостатність був у носіїв гетерозигот за цими поліморфізмами.

Дослідження експресії SUR1- (особливий об'єкт дослідження, адже вони є складовою частиною K_{ATP} -каналів мітохондріальних мембран) та SUR2-рецепторів (складова сарколемальних каналів шлуночків серця та судин) у міокарді лівого шлуночка дорослих щурів (віком 6 місяців) та старих (віком 18 місяців) з генетично детермінованою артеріальною гіпертензією (SHR) показало значні зміни порівняно зі щурами лінії Wistar-Kyoto.

Виявлено, що з віком у щурів Wistar-Kyoto експресія мРНК SUR1 значно збільшується (у 7,5 раза), а у SHR тварин навпаки, суттєво зменшується (у 9,3 раза). Різниця рівнів експресії SUR1 у старих щурів обох ліній була ще більш вражаючою – у тварин лінії SHR він був нижчим у 99,5 раза порівняно з молодими. Вірогідно, збільшення експресії SUR1-рецепторів мітохондріального типу у старих щурів лінії Wistar-Kyoto є компенсаторним захисним механізмом, направленим на підтримання енергозабезпечення міокарда, а значне зменшення їх експресії у щурів лінії SHR може сприяти розвитку патологічних процесів та бути одним з механізмів декомпенсації недостатності серця.

SUR2-рецептор разом з Kir6.1 та Kir6.2 утворює сарколемальні K_{ATP} -канали судинних (важливий регулятор судинного тону) та кардіоміоцитів (знижує мембранний потенціал спокою та зменшує тривалість потенціалу дії) відповідно. Виявлено, що експресія SUR2-рецептору з віком значно зменшується. А саме, у щурів лінії Wistar-Kyoto у 3,9 раза, у щурів SHR у 48,2 раза. Проте, у старих спонтанно гіпертензивних щурів експресія SUR2-рецептору була у 48,1 раза нижчою, порівняно зі щурами лінії Wistar-Kyoto. Отже, рівні експресії SUR1 та SUR2 у старих SHR щурів були значно меншими порівняно з молодими, а також порівняно з рівнем експресії цих рецепторів у старих щурів лінії Wistar-Kyoto.

Водночас у міокарді дорослих щурів лінії SHR рівні мРНК як судинного (Kir6.1), так і серцевого (Kir6.2) типу були значно меншими (у 6,3 та 20,9 раза відповідно) порівняно зі щурами лінії Wistar-Kyoto та дещо зростали з віком.

Дослідження експресії цих білків у старих щурів лінії Wistar-Kyoto показало, що якщо рівень експресії Kir6.1 у міокарді зберігався, то рівень експресії Kir6.2 у старих щурів знижувався у 3,8 раза.

Таким чином, вперше показано, що рівень експресії Kir6.1, Kir6.2 та SUR2 субодиниць сарколемальних K_{ATP} -каналів у дорослих щурів лінії SHR значно менший порівняно зі щурами лінії Wistar-Kyoto, що може бути однією із причин підвищеного судинного тиску у SHR щурів. Вірогідно, що значно менший рівень експресії регуляторних SUR1- та SUR2-рецепторів калієвих каналів у старих 18-місячних SHR щурів може бути одним із механізмів декомпенсації недостатності серця.

Показано, що в спонтанно скоротливих неонатальних кардіоміоцитах передсердь та шлуночків активація SUR-рецепторів спричиняє зворотну гіперполяризацію, зменшує амплітуду та тривалість потенціалу дії і частоту скорочень, знижує потенціал спокою та вміст внутрішньоклітинного кальцію. Характерним для стимуляції цих рецепторів є дилатація коронарних судин, зниження системного артеріального тиску (САТ) та кардіодепресорні реакції. Зокрема, в досліджах *in vivo* на собаках їх активація дозозалежно знижувала САТ, коронарний перфузійний тиск та загально-периферичний опір (ЗПО) максимально на 44,3, 22,4 та 47,2 % відповідно, а їх потужна активація мала значні кардіодепресорні ефекти: тиск у лівому шлуночку (ТЛШ) знижувався на 37,1 %, dP/dt_{max} та dP/dt_{min} на 51,2 та 55,6 % відповідно, ХОК на 10,9 %, ЧСС на 13,1 %.

Значення вазодилататорних реакцій при активації SUR-рецепторів залежало від природи початкового підвищення судинного тону та наявності патологічного процесу, що може змінювати реактивність судин. Зокрема, вазодилататорні ефекти при стимуляції SUR в експериментах на ізольованих препаратах аорти щурів з цукровим діабетом у хворих тварин були послабленими у 1,29, 1,77 та 1,26 раза на тлі калієвої, норадреналінової та ангіотензинової вазоконстрикції. Проте, лише при значному ступені активації цих рецепторів. Вперше показано, що вазодилатацію спричиняє активація як сарколемальних, так і міто- K_{ATP} -каналів, адже інгібування останніх зменшувало вазодилататорні

ефекти індуковані активацією SUR-рецепторів.

За фізіологічних умов стимуляція SUR-рецепторів втричі підвищує оксигенацію крові, має виражену антиоксидантну дію, дозозалежно пригнічує утворення пероксиду водню та дієнових кон'югатів (ДК) (максимально у 7,2 та 6,3 раза), супероксид-аніона та пероксинітриту, підвищує активність ферменту cNOS та гальмує iNOS (з максимумом у 3 та 2,1 раза відповідно), зменшує утворення вільної арахідонової кислоти, як маркера активності фосфоліпази A₂.

До кардіопротекторних механізмів активації SUR-рецепторів, що реалізуються внаслідок кардіогемодинамічних змін можна віднести помірне зниження артеріального тиску, що послаблює навантаження на уражене ішемізоване серце і сприяє збереженню серцевого викиду в перші години ішемії, попередження реперфузійного підвищення загального периферичного опору і опору коронарних судин, та відносне збереження показників скоротливості міокарда в період реперфузії. Особливу увагу привертає позитивний вплив на підтримання нормальної функції серця помірної стимуляції вищезгаданих рецепторів. За якої практично повністю попереджались зниження ТЛШ та dp/dt_{max} як під час ішемії, так і реперфузії, та dp/dt_{min} під час ішемії. Водночас в контрольних експериментах, без активації вищезгаданих рецепторів, ці показники суттєво знижувались – на 22,8, 41,5 та 29,1 % на кінець реперфузії відповідно. Оклюзія коронарної артерії призводила до прогресивного зниження ХОК – на 27 та 45 % на кінець ішемії та реперфузії відповідно. Встановлено, що стимуляція вищезгаданих рецепторів значним чином запобігала цьому.

Вперше показано, що кардіопротекторні механізми при активації SUR-рецепторів можуть полягати в пригніченні надлишкового індукцйбельного та реутилізаційного (з максимумом у 4,5 та 12,4 раза відповідно) та, навпаки, підвищенні протективного конститутивного синтезу NO (у 1,6 раза) та пригніченні деградації L-аргініну аргіназою (з максимумом у 11,5 раза), а також підвищенні вмісту сфінгозину (максимум у 4,7 раза), який може запускати активацію cNOS. Важливим механізмом кардіопротекції є мембранопротекція (про що свідчить зниження вмісту вільної арахідонової кислоти (з максимумом у

10 разів) та, відповідно, активності фосфоліпази A_2), пригнічення деградації АТФ (з максимумом у 5 разів) та патогенних за ішемії LTC_4 та TxB_2 (втричі), які можуть мати коронарореконстрикторну, проаритмічну та прооксидантну дію, підвищення активності ферменту гемоксигенази. Важливим захисним механізмом є пригнічення вільнорадикальних реакцій: значне обмеження генерації активних форм кисню та азоту (супероксид-аніона (у 12 разів), H_2O_2 (максимально у 10 разів), пероксинітриту (вдвічі)), як внаслідок перекисного (зменшення ДК і малонового діальдигіда вдвічі-тричі), так і ферментативного (ліпоксигеназою і циклооксигеназою) окиснення ліпідів, та пригнічення активності ксантинооксидази (втричі), а також попередження утворення токсичного вмісту сечовини та сечової кислоти. При цьому активація SUR-рецепторів не лише запобігала зниженню активності ферментів антиоксидантної системи: каталази і супероксидисмутази при ішемії-реперфузії, а навіть підвищувала її (з максимумом на 59 та 73 % відповідно). Значне гальмування реутилізаційного синтезу оксиду азоту і збільшення вмісту NO_2^- свідчить про потужну антиішемічну дію активації цих рецепторів.

Активація SUR-рецепторів за ішемії-реперфузії міокарда сприяє збереженню цілісності сарколеми, структури внутрішньоклітинних органел, зменшує контрактири міофіламентів, значною мірою попереджує деструкцію мітохондрій, що сприяє збереженню енергетичного потенціалу міокарда, та зменшує розмір інфаркту міокарда на 40 %.

Кардіопротекторними механізмами стимуляції SUR-рецепторів можуть бути помірне зменшення спряження процесів окисного фосфорилування мітохондрій, попередження відкривання мітохондріальної пори, зменшення апоптозу та некрозу кардіоміоцитів.

Виявлено, що оптимальною для кардіопротекції є помірна активація SUR-рецепторів, а в антиішемічному захисті міокарда канали мітохондріальної мембрани більшою мірою відповідають за підтримання скоротливої активності міокарда, тоді як сарколемальної – за коронарний кровообіг.

Таким чином, вперше проведено генотипування мешканців України щодо

поширення алельних поліморфізмів генів KCNJ11 та ABCC8, що кодують Kir6.2 і SUR1-рецептори K_{ATP} -каналу, та показано їх зв'язок з таким захворюванням, як серцева недостатність. Вперше показано значне зниження експресії генів, що кодують білки Kir6.1, Kir6.2 та SUR2 у дорослих щурів лінії SHR, та значне зниження експресії SUR1- та SUR2-рецепторів у старих 18-місячних SHR щурів, що може бути одним із механізмів декомпенсації недостатності серця. Показано, що захисний ефект активації SUR-рецепторів калієвих каналів реалізується за рахунок комплексних механізмів, в основі яких лежать гальмівні процеси, що включають кардіогемодинаміку і зміну метаболізму.

Ключові слова: SUR-рецептори, Kir6.x, K_{ATP} -канали, кардіопротекція, ішемія-реперфузія міокарда, алельні поліморфізми Ile337Val, Glu23Lys та Ser1369Ala, серцева недостатність.

ANNOTATION

Strutynskyi R.B. Mechanisms of cardioprotective action of activation of SUR receptors of potassium channels. – Qualifying scientific work on the rights of manuscript.

The thesis for obtaining of the doctor of biological sciences degree by the specialty 03.00.13 – Physiology of man and animals. – Bogomoletz Institute of Physiology of NAS of Ukraine. –Kyiv, 2018.

One of the main endogenous mechanisms of cellular protection against ischemia is the complex of SUR-receptors and potassium channels of the family Kir6.x, which together form an ATP-sensitive potassium (K_{ATP}) channel. Their feature is the ability to open in response to a decrease in the intracellular content of ATP below millimolar levels. This allows this type of channel to be considered a central metabolic cell sensor for its energy supply. Despite the fact that the protective role of the K_{ATP} -channels is unquestionable and they are considered as the final effector of anti-ischemic defense, the mechanisms of cardioprotection still remain poorly investigated. Currently the

incidence of polymorphisms (SNPs) in KCNJ11 gene (Kir6.2 subunit), and Ser1369Ala polymorphism of ABCC8 gene (SUR1 subunit) in Ukrainian population and their possible role as a genetic risk factor for heart disease is unknown as well as its relation to left ventricular remodeling patterns in particular in chronic heart failure (CHF). The level of expression of these canal proteins in animals of different ages, including spontaneously hypertensive rats (SHR), and their possible role in the mechanisms of decompensation of heart failure, remains uncharted.

The aim of this work was to investigate the effect of activation SUR-receptors of K_{ATP} -channels on cardiohemodynamic and biochemical parameters in physiological conditions and myocardial ischemia-reperfusion, and the possible association of heart failure with allelic polymorphisms and the expression of the genes encoding these channels.

Methods: DNA and RNA extraction; real-time PCR; whole-cell patch-clamp experiments; isolation cells (cardiomyocytes) by the collagenase method; isolated mitochondria preparation; cardiac-specific K_{ATP} -channels formed by Kir6.2/SUR2A heterologously expressed in HEK-293 cells (HEK-293_{6.2/2A}); DNP-induced output of K^+ from mitochondria was studied by K^+ -selective electrode; respiration of mitochondria was measured by the polarographic method using polarograph Oxygraph-2k (Oroboros Instruments, Austria); Ca^{2+} -induced mitochondrial permeability transition pore opening; cultivation of rat neonatal cardiomyocytes and anoxia-reoxygenation modeling; isolated vascular strips contractility; Langendorff perfusion of the isolated hearts; in vivo cardiodynamics on anesthetized dogs, ischemia-reperfusion in vitro and in vivo; biochemical, electron microscopic and morphological studies; statistic analysis.

Results. The incidence of allelic polymorphisms of KCNJ11 (KIR6.2) gene (Ile337Val and Glu23Lys), and ABCC8 (SUR1) gene polymorphism Ser1369Ala was estimated in 529 Ukrainian habitants. Frequency distribution for these alleles corresponds to Hardy–Weinberg principle. The distribution of genotypes Ile/Ile, Ile/Val and Val/Val for Ile337Val polymorphism in 383 people was 36.6, 46.2 and 17.2% respectively. Genotype distribution for Glu23Lys polymorphism of KCNJ11 (KIR6.2) gene and for Ser1369Ala polymorphism of ABCC8 (SUR1) gene was typical. The

genetic linkage is observed for these genes due to their close localization on 11p15.1 human locus. The frequency of genotypes Glu/Glu, Glu/Lys and Lys/Lys polymorphism Glu23Lys and Ser/Ser, Ser/Ala and Ala/Ala genotypes of Ser1369Ala in 504 subjects was 40.9, 44.8 and 14.3% respectively. Thus, the study of the distribution frequency of allelic variants Ile337Val and Glu23Lys of KCNJ11 gene and Ser1369Ala of ABCC8 gene in Ukrainian population (529 volunteers) has shown that it is similar to European population and close to Asian population.

99 persons with CHF of ischemic origin with left ventricular systolic dysfunction were examined. In CHF patients the frequency of Ile337Val genotype was: Ile/Ile – 40.8, Ile/Val – 44.9 and Val/Val – 14.3 %. The lowest LV mass and level LVESV was observed in patients with minor homozygote state (Val/Val, Lys/Lys, Ala/Ala for Ile337Val, Glu23Lys and Ser1369Ala polymorphisms correspondingly) that shows on the relative preserve of myocardial structure and contractility in CHF patients comparing to those one with heterozygote state. At the same time, the LVEDV value is also lowest in persons with minor homozygote state that is, probably, associated with less LV mass and size values. These observations are supported by the results of allelic distribution frequency analyze: minor homozygote state was estimated in the a group of CHF patients in 1.26 times (Glu23Lys and Ser1369Ala) and 1.32 times (Ile337Val) comparing to control group. Thus, minor homozygotes are more rare in the group of CHF patients. The patients with Val/Val genotype had left ventricular (LV) mass 334.15 g, that was on 27.3 % lower versus Ile/Val patients (425.48 g). The index of this parameter was also significantly lower (28.4 %). The frequency of Glu23Lys and Ser1369Ala was: Glu/Glu and Ser/Ser – 43,4, heterozygote – 44,4, Lys/Lys and Ala/Ala – 12,2 %. The patients with Lys/Lys and Ala/Ala genotypes had LV mass index and LV end-diastolic volume (LVEDV) significantly lower (22.9 and 26.8 %) versus heterozygotes. Thus, the greatest LV mass and LVEDV values are associated with heterozygotes, while the smallest with minor homozygotes.

The study of the expression of SUR1 and SUR2 receptors in the left ventricular myocardium of young rats (6 months old) and the old (18 months old) with genetically determined arterial hypertension (SHR) showed significant changes compared to the

Wistar-Kyoto rats. SUR1 receptors are a special research object, since they are an integral part of the mitochondrial membrane K_{ATP} -channels. SUR2 receptors are an integral part of the sarcolemmal channels of the myocardium and vessels. It has been found that the old Wistar-Kyoto rats, expression of the SUR1 mRNA are significantly increased (7.5 times), and on the contrary, in SHR animals is significantly reduced (by 9.3 times). The difference in levels of expression of SUR1 in the old rats of both lines was even greater – in SHR animals it was 99.5 times lower than young ones. Probably increasing the expression of mitochondrial SUR1 receptors in older Wistar-Kyoto rats is a compensatory protective mechanism aimed at maintaining the energy supply of the myocardium, and a significant reduction in their expression in SHR rats can contribute to the development of pathological processes and be one of the mechanisms of decompensation of heart failure.

The SUR2 receptor, together with Kir6.1 and Kir6.2, forms sarcolemmal K_{ATP} -channels of vessels (an important regulator of vascular tone) and cardiomyocytes (reduces resting membrane potential and reduces the action potential duration), respectively. It has been found that the expression of the SUR2 receptor with age is significantly reduced, namely, for Wistar-Kyoto rats by 3.9 times, for SHR rats by 48.2 times. However, in the older spontaneously hypertensive rats the expression of the SUR2 receptor was 48.1 times lower than that of the Wistar-Kyoto rats. Thus, the levels of expression of SUR1 and SUR2 in the old SHR rats were significantly lower than that of young animals, as well as than the level of expression of these receptors in the old Wistar-Kyoto rats.

At the same time, in the myocardium of young SHR rats levels of mRNA, both Kir6.1 (vascular type) and Kir6.2 (cardiac type) were significantly smaller (6.3 and 20.9 times, respectively) compared to Wistar-Kyoto rats.

Thus, it has been shown for the first time that Kir6.1, Kir6.2, and SUR2 expression rates of sarcolemmal K_{ATP} -channels subunits in young SHR rats are significantly lower than that of Wistar-Kyoto rats, which may be one of the causes of the elevated vascular pressure of SHR rats. Probably a significant reduction in the expression of SUR1 and SUR2 receptors of potassium channels in the old 18-month

SHR rats may be one of the mechanisms of decompensation of heart failure.

It has been shown that activation of SUR receptors in spontaneously contractile neonatal cardiomyocytes of the atria and ventricles causes reverse hyperpolarization, reduces the amplitude and duration of the action potential and frequency of contractions, reduces the resting potential and the content of intracellular calcium. Typical for stimulation of these receptors is dilatation of coronary vessels, lowering of systemic arterial pressure (SAP) and cardiodepressor reactions. In particular, in dog in vivo experiments activation of SUR receptors dose-dependent manner reduced SAP, coronary perfusion pressure and total peripheral resistance (TPR) with the maximum effects of 44.3, 22.4 and 47.2% respectively, and their potent activation had significant cardiac depression effects: left ventricular pressure (LVP) decreased by 37.1%, dP/dt_{\max} and dP/dt_{\min} by 51.2% and 55.6% respectively, cardiac output by 10.9%, heart rate by 13.1%.

The magnitude of vasodilator reactions depends on the nature of the increase in vascular tone and the presence of a pathological process that can alter vascular reactivity. In particular, vasodilatation effects on stimulation of SUR receptors in experiments on isolated vascular strips of rats with experimental diabetes mellitus in diseased animals were decreased by 1.29, 1.77 and 1.26 times the background of potassium, norepinephrine and angiotensin II vasoconstriction respectively. However, only with a significant degree of activation of these receptors. It has been shown for the first time that vasodilatation is triggered by activation of both sarco- and mito-KATP-channels, since inhibition of the latter reduces the vasodilation effects induced by the activation of SUR receptors.

Under physiological conditions, stimulation of SUR receptors increases the oxygenation of blood three times, has a pronounced antioxidant effect, dose-dependent depression of the formation of hydrogen peroxide and diene conjugates (with a maximum effect of 7.2 and 6.3 times), superoxide anion and peroxynitrite, increases activity the cNOS enzyme and suppresses activity the iNOS enzyme (with a maximum of 3 and 2.1 times respectively), reduces the free arachidonic acid content as a marker for phospholipase A2 activity.

It is found that the protective effect of activating the SUR-receptors of the K_{ATP} -channels is realized on the expense of moderate lowering of blood pressure, that weakens the load on the affected ischaemic heart and promotes the preservation of cardiac output in the first hours of ischemia, preventing the increase of TPR of vessels and resistance of coronal vessels of heart, and relative preservation of myocardial contractility in the period of reperfusion. The greatest cardioprotective effects were due to slight stimulation of the above-mentioned receptors, which almost completely prevented the reduction of LVP and dP/dt_{max} both during ischemia and reperfusion, and dP/dt_{min} during ischemia. At the same time, in control experiments, without activation of the above-mentioned receptors, these indices were significantly reduced – by 22.8, 41.5 and 29.1% at the end of reperfusion, respectively. The occlusion of the coronary artery induces a progressive reduction of cardiac output by 27% and 45% at the end of ischemia and reperfusion, respectively. It has been established that stimulation of the above-mentioned receptors significantly prevented this. It has been shown for the first time that cardioprotective mechanisms of activating SUR receptors can be realized by preventing a significant increase of excess NO by inducible (by iNOS) and salvage (by NADH-dependent nitrate reductase) NO synthesis (with maximum effects by 4.5 and 12.4 times respectively) and, conversely, increasing the protective constitutive NO synthesis (1.6 fold), and suppression of degradation of L-arginine by arginase (with a maximum of 11.5 times), as well as increasing of the sphingosine content (a maximum of 4.7 times), which can trigger the activation of cNOS.

An important mechanism of cardioprotection when stimulating SUR receptors is protection of membranes (as evidenced by a decrease in the free arachidonic acid content (with a maximum effect of 10 times) and, correspondingly, phospholipase A2 activity), inhibition of ATP degradation (with a maximum effect of 5 times), and stimulating the heme oxygenase reaction, and oppression of the formation of pathogenic at ischemia LTC4 and TxB2 (with a maximum effect of 3 times) because they can have coronary spasmodic, proarrhythmic and prooxidant effects. An important protective mechanism is the oppression of free radical reactions: a significant limitation of the generation of active forms of oxygen and nitrogen (superoxide-anion (12 times), H_2O_2

(with a maximum effect of 10 times), peroxynitrite (2 times), initiators of lipid peroxidation: $\cdot\text{OH}$ and $\text{NO}_2\cdot$ -radicals) as a result of peroxidation (reduction of diene conjugates and malonic dialdehyde 2-3 times) and enzymatic lipid oxidation (by lipoxygenase and cyclooxygenase), and inhibition of xanthine oxidase activity (3 times), as well as prevention of the formation of toxic levels of urea and uric acid. At the same time, in contrast to the decrease in antioxidant enzymes activity: catalase and superoxide dismutase in ischemia-reperfusion, activation of SUR receptors increased their activity (with a maximum effect of 59 and 73% respectively). Significant inhibition of salvage (by NADH-dependent nitrate reductase) NO synthesis and the increase in the content of NO_2^- indicates a potent anti-ischemic effect of activation of these receptors.

The activation of SUR receptors for myocardial ischemia-reperfusion contributes to the preservation of the integrity of sarcolemma and the structure of intracellular organelles, reduces the contracture of myofibrils, prevents the destruction of mitochondria, which contributes to the preservation of the energy potential of the myocardium, and reduces the size of myocardial infarction by 40%.

It has been found that optimal for cardioprotection is a moderate activation of SUR receptors. It has been shown that in the anti-ischemic defense of the myocardium, the SUR receptors of the mitochondrial membrane are more responsible for maintaining the contractile activity of the myocardium, while the SUR receptors of the sarcolemmal membrane regulate coronary circulation.

Thus, the distribution frequency of allelic variants Ile337Val and Glu23Lys of KCNJ11 gene and Ser1369Ala of ABCC8 gene in Ukrainian population was determined. The results indicate the dependence of clinical disease such as heart failure from allelic polymorphisms Ile337Val and Glu23Lys of KCNJ11 gene and Ser1369Ala of ABCC8 gene, which may act as a risk factor in patients with heart failure. Thus, it has been shown for the first time that Kir6.1, Kir6.2, and SUR2 expression rates of sarcolemmal K_{ATP} -channels subunits in young SHR rats are significantly lower than that of Wistar-Kyoto rats, which may be one of the causes of the elevated vascular pressure of SHR rats. Probably a significant reduction in the expression of SUR1 and SUR2

receptors of potassium channels in the old 18-month SHR rats may be one of the mechanisms of decompensation of heart failure. It is shown that the protective effect of activation of SUR receptors of potassium channels is realized due to complex mechanisms based on braking processes involving cardiohemodynamics and metabolic changes.

Key words: SUR receptors, Kir6.x, K_{ATP}-channels, cardioprotection, ischemia-reperfusion of the myocardium, allelic polymorphisms Ile337Val, Glu23Lys and Ser1369Ala, heart failure.

СПИСОК ПУБЛІКАЦІЙ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

Наукові праці, в яких опубліковані основні результати дисертації:

1. Струтинский Р.Б., Пивовар С.М. АТФ-зависимые калиевые каналы и их роль как центрального звена кардиопротекции при ишемии-реперфузии миокарда. (С. 206-252). - Мойбенко А.А. и др. Эндогенные механизмы кардиопротекции как основа патогенетической терапии заболеваний сердца // Наукова думка, Київ. – 2008, 518 с. *(Особистий внесок: пошук та аналіз літературних та власних даних, підготовка матеріалів до друку)*.
2. Strutynskyi RB, Neshcheret AP, Tumanovska LV, Rovenets RA, Moibenko AA Cardioprotective effects of flocalin in *in vivo* experiments: influence of the hemodynamic and on the damage of myocardium under ischemia-reperfusion // Int J Phys Pathophys. – 2010. – V1, №3. – С. 211-218. *(Особистий внесок: проведення досліджень, обробка отриманих результатів та їх аналіз, підготовка матеріалів до друку)*.
3. Strutynskyi R.B., Kotsuruba A.V., Neshcheret A.P., Shysh A.N., Rovenets R.A., Moibenko A.A Cardioprotective Effects of ATP-Sensitive Potassium Channels Activation in Experiments *in Vivo*: Influence on Biochemical Parameters of Blood Following Ischemia-Reperfusion of Myocardium // Int J Phys Pathophys. – 2010. –

- V.1, №4. – P.305-313. *(Особистий внесок: проведення досліджень, обробка отриманих результатів та їх аналіз, підготовка матеріалів до друку).*
4. Voitychuk O.I., Strutynskyi R.B., Yagupolskii L.M., Tinker A., Moibenko O.O., Shuba Y.M. Sarcolemmal cardiac KATP channels as a target for the cardioprotective effects of the fluorine-containing pinacidil analogue flocalin // Brit J Pharmacol. – 2011. – V.162. – №3. – P. 701-711. *(Особистий внесок: проведення частини досліджень, обробка отриманих результатів та їх аналіз, підготовка матеріалів до друку).*
 5. Strutynskyi R.B. Vasodilatation Effects of Fluorine-Containing K_{ATP} Channels Opener of Flocalin // Int J Phys Pathophys. – 2011. – V.2. – №1. –P. 69-77. *(Особистий внесок: проведення досліджень, обробка отриманих результатів та їх аналіз, підготовка матеріалів до друку).*
 6. Strutynskyi RB, Kotsiuruba AV, Neshcheret AP, Rovenets RA, Moibenko AA. Changes in Myocardium Metabolism in Ischemia-Reperfusion and Activation of ATP-Sensitive Potassium Channels. Int J Phys Pathophys. 2012; 3(3): 253-267. *(Особистий внесок: проведення досліджень, обробка отриманих результатів та їх аналіз, підготовка матеріалів до друку).*
 7. Voitychuk O.I., Strutynskyi R.B., Moibenko O.O., Shuba Y.M. Effects of fluorine-containing opener of ATP-sensitive potassium channels, pinacidil-derivative flocalin, on cardiac voltage-gated sodium and calcium channels // Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol. – 2012. – V.385. – №11. – P. 1095-1102. *(Особистий внесок: участь у дослідженнях та інтерпретації результатів).*
 8. Strutynskyi R.B., Rovenets R.A., Strutynska N.A., Neshcheret A.P., Moibenko O.O. Effect of ATP-Sensitive Potassium Channel Activation by Flocalin on the Functioning of the Cardiovascular System // Int J Phys Pathophys. – 2013. – V.4, №4. – P. 1-6. *(Особистий внесок: проведення досліджень, обробка отриманих результатів та їх аналіз, підготовка матеріалів до друку).*
 9. Strutynskyi R.B., Kotsuruba A.V., Rovenets R.A., Strutynska N.A., Yagupolskii Yu.L., Sagach V.F., Moibenko O.O. Biochemical Mechanisms of Cardioprotective Action of the Drug Product Flocalin, ATP-Sensitive K⁺ Channel Opener, in

- Myocardial Ischemia – Reperfusion // Int J Phys Pathophys. – 2014. – V.5, №3. – P.231-244. *(Особистий внесок: проведення досліджень, обробка отриманих результатів та їх аналіз, підготовка матеріалів до друку).*
10. Strutynska N.A., Strutynskyi R.B., Chorna S.V., Semenykhina O.M., Mys L.F., Moibenko O.O., Sagach V.F. New Fluorine-Containing Openers of ATP-sensitive Potassium Channels Flocalin and Tioflocalin Inhibit Calcium-Induced Mitochondrial Pore Opening in Rat Hearts // Int J Phys Pathophys. – 2014. – V.5, №4. – P.334-343. *(Особистий внесок: проведення досліджень, обробка отриманих результатів та їх аналіз, підготовка матеріалів до друку).*
 11. Хміль Н.В., Горбачёва О.С., Струтинский Р.Б., Коробейникова М.О., Белослудцева Н.В., Коломыткин О.В., Миронова Г.Д. Изучение влияния флокалина на дыхание и калиевый транспорт митохондрий сердца и печени крыс // Биофизика (Biofizika). – 2016. – Т. 61. – № 5, С. 884–888. *(Особистий внесок: ідея дослідження, участь в інтерпретації отриманих результатів).*
 12. Gorbacheva O.S., Strutynskyi R.B., Khmil N.V., Belosludtseva N.V., Mursaeva S.V., Korobeynikova M.O., Alilova G.A., Lezhnev E.I., Mironova G.D. Study of the influence of flocalin on the energy and ion exchanges in rat liver mitochondria. // Biological Motility. – Pushchino 2016. – P. 73-77. *(Особистий внесок: участь у дослідженнях та аналізі результатів, підготовка матеріалів до друку).*
 13. Khmil N.V., Gorbacheva O.S., Strutynskyi R.B., Korobeynikova M.O., Belosludtseva N.V., Kolomytkin O.V., and Mironova G.D. A Study of the Effects of Flocalin on Respiration and Potassium Transport of Rat- Heart and Liver Mitochondria // Biophysics. – 2016. – V.61, №6. – P.888–892. *(Особистий внесок: ідея дослідження, участь в інтерпретації отриманих результатів).*
 14. Струтинський Р.Б., О.О. Мойбенко, С.М. Пивовар, В.Є. Досенко, Л.М.Ягупольський. АТФ-чутливі калієві канали та зміни їх функціональної активності при стрептозотоцин-викликаному цукровому діабеті // Фізіол. журн. – 2003. – Т.49, №6, С.22-31. *(Особистий внесок: проведення досліджень, обробка отриманих результатів та їх аналіз, підготовка матеріалів до друку).*

15. Пивовар С.М., Струтинський Р.Б., Мойбенко О.О., Ягупольський Л.М. Вазодилататорні ефекти нових фторвмісних аналогів діазоксиду // Доповіді НАН України, – 2004. – №4, С.183-187. *(Особистий внесок: участь в експерименті, обробка отриманих результатів та їх аналіз, підготовка матеріалів до друку).*
16. Пивовар С.М., Струтинський Р.Б., Ягупольський Л.М., Мойбенко О.О. Дослідження механізму дії нових фторвмісних аналогів діазоксиду на судинний тонус // Фізіол. журн. – 2004. – Т.50, № 2, С.27-34. *(Особистий внесок: участь в експерименті, обробка отриманих результатів та їх аналіз, підготовка матеріалів до друку).*
17. Пивовар С.М., Струтинський Р.Б., В.І. Коржов, О.О. Мойбенко. Вплив нових активаторів АТФ-чутливих калієвих каналів на окиснювальне фосфорилування мітохондрій in vitro // Клінічна та експериментальна патологія. – 2004. – Т.ІІІ, №2, Ч.1, С.55-57. *(Особистий внесок: участь в експерименті, обробка отриманих результатів та їх аналіз, підготовка матеріалів до друку).*
18. Пивовар С.М., Струтинський Р.Б., Шиш А.М., Ягупольський Л.М., Мойбенко О.О. Дослідження протекторних властивостей фторованого активатора K_{ATP} каналів: можливі механізми захисту // Збірник робіт: “Гомеостаз: фізіологія, патологія, фармакологія і клініка”. Одеса-2005 – С.55-58. *(Особистий внесок: участь в експерименті, обробка отриманих результатів та їх аналіз, підготовка матеріалів до друку).*
19. Струтинський Р.Б., Пивовар С.Н., Ровенец Р.А., Піскун О.В., Ягупольський Л.М., Мойбенко О.О. Вплив активатора аденозинтрифосфатчутливих калієвих каналів флокаліну на функціонування ізольованого серця // Фізіол. журн. – 2005. – Т.51, № 6. – С.18-24. *(Особистий внесок: проведення досліджень, обробка отриманих результатів та їх аналіз, підготовка матеріалів до друку).*
20. Пивовар С.М., Коржов В.І., Струтинський Р.Б., Ягупольський Л.М., Мойбенко О.О. Вплив фторвмісних активаторів мітохондріальних

- аденозинтрифосфатчутливих калієвих каналів на окисне фосфорилування // Фізіол. журн. – 2006. – Т.52, №3. – С.25-33. *(Особистий внесок: участь в експерименті, обробка отриманих результатів та їх аналіз, підготовка матеріалів до друку).*
21. Мойбенко О.О., Струтинський Р.Б., Ягупольський Л.М., Мохорт М.А. Розробка та підготовка до впровадження нового вітчизняного кардіопротекторного препарату – фторвмісного активатора АТФ-залежних калієвих каналів Флокалін // Наука та інновації. – 2006. – Т.2, №4. – С.77-82. *(Особистий внесок: проведення досліджень, обробка отриманих результатів та їх аналіз, підготовка матеріалів до друку).*
 22. Л.М. Ягупольський, И.И. Малетина, К.И. Петко, О.Н. Денисенко, А.А. Мойбенко, Р.Б. Струтинский, С.Н. Пивовар, Е.В. Тарасова. Аналоги активатора калиевых каналов диазоксида содержащие дифторметокси и трифторметокси группы // Журнал органічної та фармацевтичної хімії. – 2008. – Т.6, випуск 2 (22). – С. 37-47. *(Особистий внесок: експериментальне дослідження специфічної активності нових сполук).*
 23. Струтинський Р.Б., Пивовар С.М., Тумановська Л.В., Мойбенко О.О. Кардіопротекторні ефекти флокаліну: відносна роль активації сарколемальних та мітохондріальних аденозинтрифосфатзалежних калієвих K_{ATP} каналів // Фізіол. журн. – 2008. – Т.54, №6. – С.15-23. *(Особистий внесок: проведення досліджень, обробка отриманих результатів та їх аналіз, підготовка матеріалів до друку).*
 24. Мойбенко О.О., Струтинський Р.Б., Ягупольський Л.М., Мохорт М.А., Шаламай А.С. Організація заводського виготовлення препарату Флокалін - нового вітчизняного міотропного спазмолітика і кардіопротектора // Наука та інновації. – 2009. – Т.5, №1. – С.80-84. *(Особистий внесок: проведення досліджень, обробка отриманих результатів та їх аналіз, підготовка матеріалів до друку).*
 25. Струтинський Р.Б. Кардіопротекторні ефекти лікарської форми фторвмісного активатора аденозинтрифосфатчутливих калієвих каналів флокаліну // Фізіол.

- журн. – 2009. – Т.55, №4. – С.83-90. *(Особистий внесок: проведення досліджень, обробка отриманих результатів та їх аналіз, підготовка матеріалів до друку).*
26. Струтинський Р.Б., Нещерет О.П., Тумановська Л.В., Ровенець Р.А., Мойбенко О.О. Кардіопротекторні ефекти флокаліну в експериментах *in vivo*: вплив на гемодинаміку та ураження міокарда за умов його ішемії-реперфузії // Фізіол. журн. – 2009. – Т.55, №5. – С.9-16. *(Особистий внесок: проведення досліджень, обробка отриманих результатів та їх аналіз, підготовка матеріалів до друку).*
27. Струтинський Р.Б., Коцюрuba А.В., Нещерет О.П., Шиш А.М., Ровенець Р.А., Мойбенко О.О. Кардіопротекторні ефекти активації аденозинтрифосфатзалежних калієвих каналів в експериментах *in vivo*: вплив на біохімічні параметри крові за умов ішемії-реперфузії міокарда // Фізіол. журн. – 2009. – Т.55, №6. – С.12-19. *(Особистий внесок: проведення досліджень, обробка отриманих результатів та їх аналіз, підготовка матеріалів до друку).*
28. Струтинський Р.Б. Основні кардіопротекторні ефекти нового вітчизняного фторвмісного активатора K_{ATP} каналів – препарату Флокалін // Медична гідрологія і реабілітація. – 2009. – Т.7, №4. – С.4-12. *(Особистий внесок: проведення досліджень, обробка отриманих результатів та їх аналіз, підготовка матеріалів до друку).*
29. Струтинський Р., Мохорт М., Ягупольський Л., Мойбенко О. Флокалін - новий вітчизняний кардіопротектор // Вісник фармакології та фармації. – 2010. – №3. – С.44-56. *(Особистий внесок: проведення досліджень, обробка отриманих результатів та їх аналіз, підготовка матеріалів до друку).*
30. Струтинський Р.Б. Вазодилататорні ефекти флокаліну – фторвмісного активатора аденозинтрифосфатчутливих калієвих каналів // Фізіол. журн. – 2010. – Т.56, №4. – С.59-65. *(Особистий внесок: проведення досліджень, обробка отриманих результатів та їх аналіз, підготовка матеріалів до друку).*

31. Струтинський Р.Б., Ровенець Р.А., Нещерет О.П. Вплив нового активатора аденозинтрифосфатчутливих калієвих каналів флокаліну на зміни вмісту глюкози в крові в експерименті // Фізіол. журн. – 2010. – Т.56, №6. – С. 38-47. *(Особистий внесок: проведення досліджень, обробка отриманих результатів та їх аналіз, підготовка матеріалів до друку).*
32. Струтинський Р.Б., Ровенець Р.А., Нещерет О.П., Тумановська Л.В., Бойчук Т.М., Джуран Б.В., Мойбенко О.О. Вплив лікарської форми флокаліну на перебіг ішемії-реперфузії міокарда // Фізіол. журн. – 2011. – Т.57, №1. – С. 55-65. *(Особистий внесок: проведення досліджень, обробка отриманих результатів та їх аналіз, підготовка матеріалів до друку).*
33. Струтинський Р.Б., Коцюруба А.В., Нещерет О.П., Ровенець Р.А., Мойбенко О.О. Зміни метаболізму в міокарді при ішемії-реперфузії та активації аденозинтрифосфатчутливих калієвих каналів // Фізіол. журн. – 2012. – Т.58, №1. – С. 13-26. *(Особистий внесок: проведення досліджень, обробка отриманих результатів та їх аналіз, підготовка матеріалів до друку).*
34. Струтинський Р.Б., Ровенець Р.А., Мойбенко О.О. Механізми кардіопротекторної дії вітчизняного активатора K_{ATP} каналів Флокаліну // Таврический медико-биологический вестник. – 2012. – Т.15, №3, ч.2(59). – С.226-229. *(Особистий внесок: проведення досліджень, обробка отриманих результатів та їх аналіз, підготовка матеріалів до друку).*
35. Струтинський Р.Б., Мойбенко О.О., Чебанов В. А., Горобець М. Ю. Моделювання промислового процесу виробництва препарату “Флокалін” та визначення його оптимально-ефективної дози для лікування захворювань серця // Наука та інновації. – 2013. – Т.9, №1. С.55-63. *(Особистий внесок: проведення досліджень, обробка отриманих результатів та їх аналіз, підготовка матеріалів до друку).*
36. Струтинський Р.Б., Ровенець Р.А., Н.А. Струтинська, Нещерет О.П., Мойбенко О.О. Вплив активації аденозинтрифосфатчутливих калієвих каналів флокаліном на функцію серцево-судинної системи // Фізіол. журн. – 2013. – Т.59, №1. – С. 11-16. *(Особистий внесок: проведення досліджень, обробка*

- отриманих результатів та їх аналіз, підготовка матеріалів до друку).*
37. Струтинський Р.Б., Нагібін В.С., Струтинська Н.А., Янчій О.Р., Мойбенко О.О. Вплив флокаліну на розвиток апоптозу та некрозу при аноксії-реоксигенації ізольованих неонатальних кардіоміоцитів // Фізіол. журн. – 2013. – Т.59, №3. – С. 3-9. *(Особистий внесок: проведення досліджень, обробка отриманих результатів та їх аналіз, підготовка матеріалів до друку).*
 38. Струтинський Р.Б., Коцюруба А.В., Ровенець Р.А., Струтинська Н.А., Ягупольський Ю.Л., Сагач В.Ф., Мойбенко О.О. Дослідження біохімічних механізмів кардіопротекторної дії лікарської форми активатора аденозинтрифосфатчутливих калієвих каналів флокаліну за ішемії-реперфузії міокарда // Фізіол. журн. – 2013. – Т.59, №4. – С. 16-27. *(Особистий внесок: проведення досліджень, обробка отриманих результатів та їх аналіз, підготовка матеріалів до друку).*
 39. Струтинська Н.А., Струтинський Р.Б., Чорна С.В., Семенихіна О.М., Мись Л.А., Мойбенко О.О., Сагач В.Ф. Нові фторвмісні активатори АТФ-чутливих калієвих каналів флокалін і тіофлокалін пригнічують кальційіндуковане відкривання мітохондріальної пори у серці щурів // Фізіол. журн. – 2013. – Т.59, №6. – С. 3–11. *(Особистий внесок: проведення досліджень, обробка отриманих результатів та їх аналіз, підготовка матеріалів до друку).*
 40. Струтинський Р.Б., Струтинська Н.А., Максимюк О.П., Платонов М.О., Бойко О.М., Васильченко О.В., Федянович І. М., Досенко В.Є., Кришталь О.О. Розроблення нових активаторів АТФ-чутливих калієвих каналів клітинних мембран // Наука та інновації. – 2016. – Т.12, №4 – С.37-47. *(Особистий внесок: проведення досліджень, обробка отриманих результатів та їх аналіз, підготовка матеріалів до друку).*
 41. Strutynskyi R.B., Strutynska N.A., Maximyuk O.P., Platonov M.O., Boyko O.M., Vasylchenko A.V., Fedyanovich I.N., Dosenko V.E., and Krishtal O.A. Design of new openers of ATP-sensitive potassium channels of the cell membranes // Sci. innov. 2016, 12(4): 36-44. *(Особистий внесок: проведення досліджень,*

обробка отриманих результатів та їх аналіз, підготовка матеріалів до друку).

42. Струтинський Р.Б., Ровенець Р.А., Сваричевський О.В., Досенко В.Є. Поширення алельних поліморфізмів генів, що кодують субодиниці K_{ATP} каналів ($Pe_{337} \rightarrow Val$ та $Glu_{23} \rightarrow Lys$ гена $KCNJ11$ та $Ser_{1369} \rightarrow Ala$ гена $ABCC8$) в українській популяції // Фізіол. журн. – 2017. – Т.63, №3. – С. 3–8. *(Особистий внесок: проведення досліджень, обробка отриманих результатів та їх аналіз, підготовка матеріалів до друку).*
43. Ягупольський Л.М., Малетіна І.І., Петко К.І., Мойбенко О.О., Струтинський Р.Б., Пивовар С.М., Шевчук В.Г., Карвацький І.М., Тарасова К.В. Патент України № 77344 А 61 К 31/54. „Дифторметилловий-3-метил-2Н1,2,4-бензотіодіозин-1,1 діоксид”. № а 2005 03296; Заяв. 11.04.2005; Опубл. 15.11.2006. – Промислова власність. – 2006. – №11. *(Особистий внесок: експериментальне дослідження специфічної активності нових сполук).*
44. Струтинський Р.Б., Мойбенко О.О., Ягупольський Ю.Л. Патент України на корисну модель № 59490 А 61 К 31/00. „Спосіб зменшення розміру некротичного ушкодження міокарда при експериментальній ішемії-реперфузії міокарда”. № u 2011 02188; Заяв. 24.02.2011; Опубл. 10.05.2011. – Промислова власність. – 2011. – Бюл. №9. *(Особистий внесок: проведення досліджень, обробка отриманих результатів та їх аналіз, підготовка матеріалів до друку).*
45. Струтинський Р.Б., Мойбенко О.О., Ягупольський Ю.Л. Патент України на корисну модель № 64220 А 61 К 31/00. „Спосіб зниження судинного тонуусу при артеріальній гіпертонії, гострих та хронічних коронарних синдромах” № u 2011 08580; Заяв. 08.07.2011; Опубл. 25.10.2011. – Промислова власність— 2011. – Бюл. №20. *(Особистий внесок: проведення досліджень, обробка отриманих результатів та їх аналіз, підготовка матеріалів до друку).*
46. Струтинський Р.Б., Мойбенко О.О., Ягупольський Ю.Л., Петко К.І., Безпалько Л.В., Шаламай А.С. Патент України на корисну модель № 71067 А 61 К 31/00. „Спосіб зменшення розміру зони інфаркту міокарда при

- експериментальній ішемії-реперфузії міокарда” № у 2012 04588; Заяв. 12.04.2012; Опубл. 25.06.2012. – Промислова власність. – 2012. – Бюл. №12. *(Особистий внесок: проведення досліджень, обробка отриманих результатів та їх аналіз, підготовка матеріалів до друку).*
47. Мойбенко О.О., Струтинський Р.Б., Ягупольський Ю.Л., Струтинський В.Р., Петко К.І. Патент України на корисну модель № 91257 А 61 К 31/00.”Спосіб попередження інфаркту міокарда при експериментальній гострій ішемії-реперфузії міокарда” № у 2014 01101; Заяв. 06.02.2014; Опубл. 25.06.2014. – Промислова власність. – 2014. – Бюл. №12. *(Особистий внесок: проведення досліджень, обробка отриманих результатів та їх аналіз, підготовка матеріалів до друку).*
48. Струтинський Р.Б., Струтинська Н.А., Сагач В.Ф., Мойбенко О.О., Ягупольський Ю.Л. Патент України на корисну модель № 98022 А 61 К 31/00. «Спосіб попередження кальційіндукованого відкривання мітохондріальної пори у серці» № у 2014 12691; Заяв. 26.11.2014; Опубл. 10.04.2015. – Промислова власність. – 2015. – Бюл. №7. *(Особистий внесок: проведення досліджень, обробка отриманих результатів та їх аналіз, підготовка матеріалів до друку).*
49. Струтинський Р.Б., Мойбенко О.О., Нагібін В.С., Ягупольський Ю.Л. Патент України на корисну модель № 98023 А 61 К 31/00. «Спосіб попередження апоптозу та некрозу за аноксії-реоксигенації ізольованих неонатальних кардіоміоцитів» № у 2014 12692; Заяв. 26.11.2014; Опубл. 10.04.2015. – Промислова власність. – 2015. – Бюл. №7. *(Особистий внесок: проведення досліджень, обробка отриманих результатів та їх аналіз, підготовка матеріалів до друку).*
50. Кришталь О.О., Максимюк О.П., Струтинський Р.Б., Мойбенко О.О., Платонов М.О., Бойко О.М., Васильченко О.В. Патент України на корисну модель №99508 А 61 К 31/00. «Спосіб створення нових активаторів АТФ-залежних калієвих каналів клітинних мембран» № у 2014 13557; Заяв. 17.12.2014; Опубл. 10.06.2015. – Промислова власність. – 2015. – Бюл. №11.

(Особистий внесок: участь у розробленні методу, підготовка до друку).

51. Струтинський Р.Б., Максимюк О.П., Кришталь О.О., Досенко В.Є, Струтинська Н.А., Платонов М.О., Бойко О.М., Васильченко О.В. Патент України на корисну модель №107758 А 61 К 31/00. «Спосіб відкривання АТФ-чутливих калієвих каналів сарколемальної мембрани клітин» № у 2015 11632; Заяв. 25.11.2015; Опубл. 24.06.2016. – Промислова власність. – 2016. – Бюл. №12. *(Особистий внесок: проведення досліджень, обробка отриманих результатів та їх аналіз, підготовка матеріалів до друку).*
52. Струтинський Р.Б., Максимюк О.П., Кришталь О.О., Досенко В.Є, Струтинська Н.А., Платонов М.О., Бойко О.М., Васильченко О.В. Патент України на корисну модель №107859 А 61 К 31/00. «Спосіб відкривання АТФ-чутливих калієвих каналів внутрішньої мембрани мітохондрій» № у 2015 12481; Заяв. 17.12.2015; Опубл. 24.06.2016. – Промислова власність. – 2016. – Бюл. №12. *(Особистий внесок: проведення досліджень, обробка отриманих результатів та їх аналіз, підготовка матеріалів до друку).*

Наукові праці, які засвідчують апробацію матеріалів дисертації:

53. Strutinskii RB, Moibenko AA, Pyvovar SM, Yagupolskii LM. The investigation of vasomotor and cardioprotective effects of new openers of ATP-sensitive K-channels.// 3rd FEPS Congress, 28 june – 3 july 2003, Nice, France.
54. Serebrovskaya T.V., Kurhalyuk N.M., Moibenko A.A., Pivovar S.M., Strutinskii R.B. Effects of mitochondrial K_{ATP} stimulation on miocardial energy supply in rats with different resistance to hypoxia // 5th Int. Conference “Hypoxia in Medicine”, September 26-28, 2003, Innsbruck, Austria.
55. Струтинский Р.Б., А.А. Мойбенко, Пивовар С.Н., Л.М.Ягупольський. Новые активаторы АТФ-зависимых калиевых каналов // Научно-практический журн., “Кардиология СНГ”. – Т. 1. – 2003 (приложение). – С.272-273.
56. Пивовар СМ., Струтинський РБ., Шиш АМ., Мойбенко ОО., Ягупольський ЛМ. Дослідження вазодилататорних властивостей нових фторвмісних аналогів діазоксиду // Фізіол. журн. – 2003. – Т.50, №3. – С. 109-110.

57. Пивовар С.Н., Струтинский Р.Б., А.А. Мойбенко, Л.М.Ягупольский. Изменение сосудистого тонуса при активации АТФ-зависимых калиевых каналов. // Москва: ФФМ МГУ, Тезисы докладов, 2004, С.78-79.
58. Струтинский Р.Б., Кукоба Т.В., Мойбенко А.А. Кардиопротекторные эффекты новых активаторов K_{ATP} каналов // Рос. физиол. журн. им. И. М. Сеченова. – 2004. – Т.90, №8. – С.197.
59. Пивовар С.Н., Струтинский Р.Б., Ровенец Р.А. Исследование влияния новых фторированных активаторов K_{ATP} каналов на деятельность сердца в норме и при ишемии-реперфузии миокарда // Санкт-Петербург, Россия, Вестник молодых ученых. – 2005. – С.115.
60. Пивовар С.Н., Струтинский Р.Б. Фторированные аналоги диазооксида – перспективные активаторы АТФ-чувствительных калиевых каналов. Пущино – Сборник тезисов: «Биология наука XXI века». С. – 163-164.
61. Pyvovar S.N, Korgov V.I., Strutinskii R.B., Moybenko A.A. Changes of the mitochondrial function by the new fluorine-containig K_{ATP} channel openers “4-th Conference on Mitochondrial physiology” Schrocken, Vorarlberg, Austria 16-20 September 2005 – Mitochondrial Physiology Network 10.9: 1-152. – 2005. – P.81-82.
62. Струтинський Р.Б., С.М. Пивовар, Р.А. Ровенець, О.О. Мойбенко. Ендогенні механізми кардіопротекції при активації АТФ-чутливих калієвих каналів фторвмісними активаторами // Фізіол. журн. – 2006. – Т.52, №2. – С. 99.
63. Pyvovar S.M., Strutytskyi R.B., Moybenko O.O. The influence of fluorine-containing K_{ATP} channel openers on energetic and contractile function in rat hearts // Acta Physiologica. – Mart 26-29. – Munich 2006. – Vol.186, suppl.1. – P.252.
64. Струтинський Р.Б. Роль сарколемальних та мітохондріальних K_{ATP} -каналів в розвитку фармакологічного прекондиціювання ізолюваного серця морської свинки // Труды Крымского государственного университета им. С.И. Георгиевского. – 2006. – Т.142, часть III. – Ст.251-252.
65. Струтинський Р.Б., Мойбенко О.О., Коцюруба А.В., Даценко В.В., Ровенець Р.А. Кардіопротекторні ефекти лікарської форми нового вітчизняного

- активатора K_{ATP} -каналів флокаліна // Бюлетень VI читань ім. В.В. Підвисоцького, присвячений до 150-річчя з дня народження. Одеса, 31 травня – 1 червня. – 2007. – С.112-113.
66. Strutynskyi R.B., Moybenko O.O. Cardioprotective effects of the new fluorine-containing opener of K_{ATP} channels flokalin // 8-th Meeting of France – New EU Members, 16-th JMRC Symposium “New Frontiers in Cardiovascular Research”, 5th – 7th june, Krakow, Poland. – 2008. – P.84-85.
 67. Р.Б. Струтинський, С.Б. Французова, Р.А. Ровенець, Л.В.Тумановська, О.О. Мойбенко. Флокалін – новий вітчизняний кардіопротектор // Патологія. – 2008. – Т.5, №3. – Ст. 22.
 68. Р.Б. Струтинський, О.О. Мойбенко. Основні механізми кардіопротекторних ефектів флокаліна // Бюлетень VIII – читань ім. В.В. Підвисоцького, 28-29 травня 2009 р., Одеса, С.188-189.
 69. Yagupolskii LM, Gorobets NYu, Petko KI, Ostras KS, Maletina II, Makitruk VL, Shalamay AS, Strutynskyi RB, Moybenko OO Fluorinated Analogs of Pinacidil: Evolution of Drug Development from the Laboratory to Production // 3rd International Conference on Drug Discovery and Therapy, February 7th - 10th, 2011, Dubai, UAE.
 70. Voitychuk O.I., Strutynskyi R.B., Shuba Y.M. Effects of ATP-dependen potassium channel activator flokalin include sodium and calcium channels inhibition in cardiomyocytes // The Biophysical Society 55th Annual Meeting in Baltimore, Maryland, March 5-9, 2011, Biophysical J. 2011. – V.100, № 3. – P.433a.
 71. Strutynskyi R.B., Moybenko O.O. Cardioprotective effects of the new fluorine-containing opener of K_{ATP} channels flokalin // Биологически активные вещества: фундаментальные и прикладные вопросы получения и применения, 23-28 травня 2011 р., Новий Світ, Україна, С.609-610.
 72. Мойбенко О.О., Струтинський Р.Б., Ягупольський Ю.Л., Войтичук О.И., Шуба Я.М. Возможные механизмы кардиопротекторных эффектов активации K_{ATP} каналов при ишемии-реперфузии миокарда// Бюлетень XX – читань ім. В.В. Підвисоцького, 26-27 травня 2011 р., Одеса, С.135-136.

73. Strutynskyi R.B., Rovenets R.A., Frantsuzova S.B., Kotsiuruba A.V., Neshcheret A.P., Moibenko A.A. Influence of new opener of K_{ATP} channels of flocalin on a hemodynamic and metabolism in dogs // Научные труды III съезда физиологов СНГ. Физиология и здоровье человека, Ялта, Украина, 1-6 октября 2011 р., С.130.
74. Войтичук О.И., Струтинский Р.Б., Мойбенко А.А., Шуба Я.М. Влияние фторсодержащего активатора АТФ-зависимых калиевых каналов флокалина на возбудимость и мембранные токи кардиомиоцитов // Научные труды III съезда физиологов СНГ. Физиология и здоровье человека, Ялта, Украина, 1-6 октября 2011 р., С.68.
75. Струтинский Р.Б., Войтичук О.И., Шуба Я.М., Мойбенко А.А. Возможные механизмы кардиопротекторных эффектов активации K_{ATP} каналов Флокалином при ишемии-реперфузии миокарда // Пятая всероссийская школа-конференция по физиологии кровообращения, Россия, Москва, 31 января - 3 февраля 2012г.
76. Струтинская Н.А., Струтинский Р.Б., Сагач В.Ф., Мойбенко А.А. Активация митохондриальных АТФ-зависимых калиевых каналов ингибирует открывание циклоспоринчувствительной митохондриальной поры в сердце крыс // VIII Всероссийская конференция с международным участием «Механизмы функционирования висцеральных систем», Россия, Санкт-Петербург, 25 – 28 сентября 2012г.
77. Струтинский Р.Б., Коцюруба А.В., Струтинская Н.А., Нагибин В.С., Мойбенко А.А. Возможные механизмы кардиопротекторного действия нового активатора K_{ATP} каналов препарата флокалин // Российский национальный конгресс кардиологов «Кардиология: от науки – к практике», 25-27 сентября 2013 г., Россия, Санкт-Петербург, Сборник работ. – С. 15-16.
78. Струтинський Р.Б., Ровенець Р.А., Мойбенко О.О. Можливі механізми кардіопротекції при активації АТФ-чутливих калієвих каналів за ішемії-реперфузії міокарда // Матеріали VI пленуму наукового товариства патофізіологів України та науково-практичної конференції за участю

- міжнародних спеціалістів «Актуальні питання експериментальної та клінічної патофізіології», 23-25 вересня 2014 року, м. Вінниця, С. 101-102.
79. Струтинський Р.Б. Створення нового вітчизняного кардіопротектора та міотропного спазмолітика препарату Флокалін // Брошура «Форум “Наука. Бізнес. Інновації.” Проекти – 2015», Київ, 2015, С. 5.
 80. Voronkov L., Dosenko V., Mazur I., Strutynskyi R., Horovenko N. Impact of KCNJ11 gene polymorphisms of ATP-sensitive potassium channel on left ventricular end-diastolic volume and mass in chronic systolic heart failure / Heart Failure Winter Research Meeting. – 21-23 january. – 2016. – Les Diablerets, Switzerland / HFA Winter Meeting on Translation Heart Failure research Abstract programme. – P. 25.
 81. Струтинський Р.Б., Струтинська Н.А., Нагібін В.С., Сагач В.Ф. Активатори K_{ATP} каналів флокалін і тіофлокалін попереджують кальційіндуковане відкривання мітохондріальної пори, апоптоз та некроз кардіоміоцитів у серці щурів // Бюлетень XV – читань ім. В.В. Підвисоцького, Одеса 2016, С.184-185.
 82. Воронков Л., Досенко В., Мазур І., Струтинський Р. Вплив поліморфізмів гена KCNJ11, що кодує АТФ – чутливі калієві канали на кінцево-діастолічний об'єм та масу міокарда лівого шлуночка у хворих із систолічною хронічною серцевою недостатністю // VI Конференції Української асоціації фахівців із серцевої недостатності «Хронічна серцева недостатність в Україні: пріоритетні шляхи вирішення проблеми» // Київ, 21–22 квітня 2016 р.
 83. Воронков Л., Досенко В., Мазур І., Струтинський Р. Потенційна роль поліморфізму генів *KCNJ11* та *ABCC8*, що кодують АТФ-чутливі калієві канали, у розвитку гіпертрофії та ремоделювання міокарда // XVII національний конгрес кардіологів України // Київ, 22-23 вересня 2016р.
 84. Mazur I., Voronkov L., Dosenko V., Strutynskyi R., Gorovenko N. Impact of KCNJ11 gene polymorphisms of ATP-sensitive potassium channel on left ventricular end-diastolic volume and mass in chronic systolic heart failure // Europ J Heart Failure. – 2016. – V.18, № 1, P. 284.

ЗМІСТ

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ.....	33
ВСТУП.....	39
РОЗДІЛ 1. K_{ATP} -КАНАЛИ, ЯК ОДИН ІЗ ГОЛОВНИХ МЕХАНІЗМІВ ЕНДОГЕННОГО ЗАХИСТУ СЕРЦЯ ЗА ІШЕМІЇ (огляд літератури).....	51
1.1. Енергозабезпечення міокарда та наслідки його порушення при ішемії..	51
1.2. K_{ATP} -канал як метаболічний сенсор енергодефіциту.....	64
1.3. Протекторні властивості K_{ATP} -каналів.....	75
1.3.1. K_{ATP} -канали як один із головних ендogenous механізмів кардіопротекції за ішемії міокарда.....	77
1.3.2. Молекулярно-генетичні експерименти як беззаперечні докази кардіопротекторної функції комплексу SUR-рецепторів та Kir6.x.....	85
1.3.3. Зміна функціональної активності K_{ATP} -каналів за алельних поліморфізмів	89
1.4. Специфічна активність фармакологічних активаторів K_{ATP} -каналів та сайти їх взаємодії з SUR-рецептором каналу	92
1.5. Фармакологічні відкривачі K_{ATP} -каналів в клініці та розроблення нових оригінальних активаторів SUR-рецепторів калієвих каналів	98
РОЗДІЛ 2. МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ.....	103
2.1. Використані тварини.....	103
2.2. Отримання та культивування неонатальних кардіоміоцитів щура.....	103
2.3. Культура ембріональних клітин нирок HEK-293.....	104
2.4. Електрофізіологічні експерименти та розчини.....	104
2.5. Визначення живих, некротичних, апоптотичних клітин за аноксії-реоксигенації неонатальних кардіоміоцитів.....	105
2.6. Дослідження на суспензії ізольованих мітохондрій.....	106
2.7. Тензометричні скорочення ізольованих судинних смужок.....	109
2.8. Дослідження ізольованого, перфузованого за Лангендорфом серця...	111

2.9. Електронно-мікроскопічні дослідження міокарда.....	113
2.10. Експерименти на анестезованих собаках <i>in vivo</i>	113
2.11. Визначення зон ураження міокарда при локальній ішемії-реперфузії	117
2.12. Визначення біохімічних показників.....	117
2.13. Визначення алельних поліморфізмів SUR та Kir6.x білків.....	122
2.14. Визначення експресії генів, що кодують SUR1, SUR2, Kir6.1 та Kir6.2	123
2.15. Використані реактиви.....	124
2.16. Статистичне оброблення результатів.....	125
РОЗДІЛ 3. ВИВЧЕННЯ МЕХАНІЗМІВ ДІЇ НОВИХ ВІТЧИЗНЯНИХ	
АКТИВАТОРІВ K_{ATP}-КАНАЛІВ В ЕКСПЕРИМЕНТІ.....	126
3.1. Вплив активації SUR-рецепторів на загальну електричну активність та іонний транспорт через плазматичну та мітохондріальну мембрану....	126
3.1.1. Вплив активації SUR-рецепторів на електричну активність ізольованих кардіоміоцитів.....	126
3.1.2. Дія нових активаторів SUR-рецепторів на гетерологічно експресовані K_{ATP} -канали.....	129
3.1.3. Дія нових активаторів на міто- K_{ATP} -канали.....	133
3.2. Вплив активації SUR-рецепторів на показники кардіогемодинаміки...	136
3.2.1. Вплив активації SUR-рецепторів на тонус судин та функцію серця в експериментах <i>in vitro</i>	136
3.2.2. Вплив активації SUR-рецепторів на кардіогемодинаміку в експериментах <i>in vivo</i>	150
3.3. Вплив нових активаторів SUR-рецепторів на дихання мітохондрій.....	163
3.4. Зміна біохімічних показників плазми крові за активації SUR-рецепторів.....	167
РОЗДІЛ 4. ДОСЛІДЖЕННЯ МЕХАНІЗМІВ КАРДІОПРОТЕКТОРНОЇ	
ДІЇ АКТИВАЦІЇ SUR-РЕЦЕПТОРІВ K_{ATP}-КАНАЛІВ.....	179
4.1. Відносна роль у кардіопротекції активації сарко- та міто- K_{ATP} -каналів при ішемії-реперфузії ізольованого серця.	179
4.2. Дослідження кардіопротекторної дії стимуляції SUR-рецепторів при гострому експериментальному інфаркті міокарда.....	191

4.2.1. Зміна показників кардіогемодинаміки.....	191
4.2.2. Біохімічні дослідження різних зон міокарда та плазми крові.....	210
4.2.3. Зменшення розміру зони інфаркту міокарда.....	277
4.3. Електронно-мікроскопічні дослідження міокарда після ішемії- реперфузії ізольованого серця.....	280
4.4. Пригнічення Ca^{2+} -індукованого набухання ізольованих мітохондрій....	283
4.5. Вплив активації SUR-рецепторів на апоптоз та некроз при аноксії- реоксигенації ізольованих неонатальних кардіоміоцитів.....	289
РОЗДІЛ 5. ВИЗНАЧЕННЯ ОПТИМАЛЬНОГО ДЛЯ КАРДІОПРОТЕКЦІЇ СТУПЕНЯ АКТИВАЦІЇ SUR-РЕЦЕПТОРІВ КАЛІЄВИХ КАНАЛІВ...	
5.1. Залежність розміру зони інфаркту від рівня активації SUR-рецепторів..	294
5.2. Залежність показників кардіогемодинаміки від рівня активації SUR-рецепторів при ішемії-реперфузії міокарда.....	297
5.3. Зміни біохімічних показників плазми крові при різному ступені активації SUR-рецепторів при ішемії-реперфузії міокарда	308
РОЗДІЛ 6. ПОШИРЕННЯ АЛЕЛЬНИХ ПОЛІМОРФІЗМІВ ГЕНІВ ABCC8 (SUR1) І KCNJ11 (KIR6.2) В УКРАЇНСЬКІЙ ПОПУЛЯЦІЇ ТА ЇХ МОЖЛИВА РОЛЬ ЯК ФАКТОРІВ РИЗИКУ ЗАХВОРЮВАНЬ СЕРЦЯ	
6.1. Поширення алельних поліморфізмів Ile337Val, Glu23Lys та Ser1369Ala в українській популяції	324
6.2. Розподіл алельних варіантів генів KCNJ11 та ABCC8 у практично здорових людей, хворих на інфаркт міокарда та серцеву недостатність	328
6.3. Зміна показників ехокардіографії у людей з хронічною серцевою недостатністю за алельних поліморфізмів Ile337Val, Glu23Lys та Ser1369Al.....	330
РОЗДІЛ 7. ДОСЛІДЖЕННЯ ЕКСПРЕСІЇ SUR1, SUR2, KIR6.1 ТА KIR6.2 У ЩУРІВ SHR ТА WISTAR-KYOTO.....	
ЗАКЛЮЧЕННЯ.....	338
ВИСНОВКИ.....	357
СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ.....	360
ДОДАТОК 1.....	425

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ

[АТФ]_i – внутрішньоклітинний вміст АТФ

5-ГД – 5-гідроксидеканоїнова кислота (специфічний блокатор міто- K_{ATP} -каналів)

АДФ – аденозиндифосфат

АДФ/О – коефіцієнт ефективності фосфорилування

АК – аденілаткіназа

АКК – ацетил-КоА-карбоксилаза

АМФ – аденозинмонофосфат

АМФ-ПК – АМФ-залежна протейніназа

АОС – антиоксидантна система

А-Р – аноксія-реоксигенація

АТФ – аденозинтрифосфат

АФА – активні форми азоту

АФК – активні форми кисню

ВАХ – вольт-амперна характеристика

ВМНТ – високомолекулярні нітрозотіоли

ВПКК – високوپорогові кальцієві канали.

ГДФ – гуанозиндифосфат

ГБК – глібенкламід (специфічний блокатор K_{ATP} -каналів)

ГМ – гладенькі м'язи

ГМК – гладеньком'язові клітини

ГСН – гостра серцева недостатність

ГТФ – гуанідинтрифосфат

ДіазоФм – новий активатор K_{ATP} -каналів, фторвмісний аналог діазоксиду

ДіазоФп – новий активатор K_{ATP} -каналів, фторвмісний аналог діазоксиду

ДК – дієнові кон'югати

ДКЧ – дихальний контроль за Чансом

ДМСО – диметилсульфонсид

ДНК – дезоксірибонуклеїнова кислота

ДНФ – 2,4-динитрофенол (роз'єднувач спряження дихання та фосфорилування)

ЕКГ – електрокардіограма

ЖК – жирні кислоти

ЗПО – загальний периферичний опір судин

ІДФ – інозитолдифосфат

ІМ – інфаркт міокарда

Індекс – індекс скоротливості серця (dp/dt_{max})/p

ІО – індекс оксигенації

ІПК – ішемічне прекондиціювання

I-P – ішемія-реперфузія

ІТФ – інозитолтрифосфат

K_{АТР}-канал – АТФ-чутливий (залежний) калієвий канал

КД – калієва деполяризація

КДО – об'єм лівого шлуночка в діастолі

КДТ – кінцево-діастолічний тиск

КК – креатинкіназа

КПТ – коронарний перфузійний тиск

КСО – об'єм лівого шлуночка в систолі

ЛДГ – лактатдегідрогеназа

ЛДГ-м – м'язова форма лактатдегідрогенази

ЛШ – лівий шлуночок серця

МДА – малоновий діальдегід

міто-K_{АТФ} – АТФ-чутливий калієвий канал внутрішньої мембрани мітохондрій

МП – мітохондріальна транспортна пора

НАД – нікотинамідаденіндинуклеотид

НАДФ – нікотинамідаденіндинуклеотидфосфат

НВ – норадреналінова вазоконстрикція

НМНТ – низькомолекулярні нітрозотіоли

ПД – потенціал дії

ПЗЛ – практично здорові люди

ПЗНК – потенціалзалежні натрієві канали

ПНЖК – поліненасичені жирні кислоти

ПОЛ – перекисне окиснення ліпідів

ПС – потенціал спокою

ПФ-10 – новий фторвмісний активатор K_{ATP} -каналів

ПЛР – поліланцюгова реакція

ПШН – початкова швидкість наростання

сарко- K_{ATP} -канал – ATP -чутливий калієвий канал сарколемальної мембрани

САТ – системний артеріальний тиск

СГМК – судинні гладеньком'язові клітини

CO_2 – вуглекислий газ

СОД – супероксиддисмутаза

СПР – саркоплазматичний ретикулум

ССЗ – серцево-судинні захворювання

ТЛШ – тиск в лівому шлуночку серця

ТПД – тривалість потенціалу дії

УДФ – урідиндифосфат

УТФ – урідинтрифосфат

ФА – фармакологічні активатори

ФАД – флавінаденіндинуклеотид

Фл – флокалін

Флокалін-З – лікарська форма (таблетка) флокаліну, повністю виготовлена в заводських умовах

Флокалін-Зд – дослідна партія флокаліну З (таблетка)

Флокалін-Л – лікарська форма (таблетка) флокаліну, виготовлена в заводських умовах з субстанції, що була синтезована лабораторним методом

Флокалін-С – субстанція флокаліну, новий фторвмісний активатор K_{ATP} -каналів

ФМН – флавінмононуклеотид

ХЛ – H_2O_2 -індукована хемілюмінесценція

ХОК – хвилинний об'єм крові

ХСН – хронічна серцева недостатність

цГМФ – циклічний гуанінмонофосфат

ЦД – цукровий діабет

ЦсА – циклоспорин А

ЦТФ – цитозинтрифосфат

ЧСС – частота серцевих скорочень

ABCC8 – ген, що кодує SUR1 субодиницю K_{ATP} -каналу

ABCC9 – ген, що кодує SUR2 субодиницю K_{ATP} -каналу

AIF – фактор індукції апоптозу

cNOS – контистуційна NO-синтаза

СО – монооксид вуглецю

dP/dt – перша похідна тиску у лівому шлуночку

dP/dt_{max} – швидкість наростання тиску у лівому шлуночку

dP/dt_{min} – швидкість зниження тиску у порожнині лівого шлуночка

E23K – поліморфізм гена KCNJ11 (с.67G>A, rs5219)

E₂₅₄ – оптична густина суміші ксантину, гіпоксантину та інозину

EDHF – ендотелій-залежний гіперполяризуючий фактор

eNOS – ендотеліальна NO-синтаза

ERK_{1/2} – протеїнкіназа (від англ. extracellular signal-regulated kinase)

EC₅₀ – значення концентрації половинної активації

GAPDH – гліцеральдегід 3-фосфатдегідрогеназа

GSK3 β – глікогенсинтаза-кіназа

GSNO – нітрозоглутатіон

H₂O₂ – пероксид водню

H9C2 – клітинна лінія кардіоміоцитів

HEK-293_{6.2/2A} – лінія клітин HEK-293 із стабільною експресією Kir6.2 і SUR2A субодиниць кардіоспецифічного K_{ATP} -каналу

Hif-1(Hypoxia Inducible Factor) – фактор, що індукується гіпоксією

I₀ – амплітуда максимального спалаху ХЛ

I_5 – швидкість затухання ХЛ

I_{\max} – інтенсивність швидкого спалаху

iNOS – індукцибельна NO-синтаза

$I_{K,ATP}$ – калієвий струм через K_{ATP} -канал

IC_{50} – значення концентрації половинного інгібування

KCNJ1 – ген, що кодує ROMK2

KCNJ11 – ген, що кодує Kir6.2 субодиницю K_{ATP} -каналу

KCNJ8 – ген, що кодує Kir6.1 субодиницю K_{ATP} -каналу

Kir6.1, Kir6.2, Kir6.x – калієві канали внутрішнього випрямлення, субодиниці K_{ATP} -каналу

Kir6.1-нокаут – нокаutowані по Kir6.1 тварини

KoQ – коензим Q (убіхінон)

LTC₄ – пептидолейкотрієн C₄

M1 і M2 – трансмембранні домени Kir6.x субодиниць K_{ATP} -каналів

mABC-1 – мітохондріальна АТФ-зв'язуюча касета протеїну-1

MEF2 – критичний транскрипційний фактор, міозит-підвищуючий фактор 2

MgАТФ – сполучення магнію з аденозинтрифосфатом

MgNDP – сполучення магнію з нуклеотиддифосфатами

MgАДФ – сполучення магнію з аденозиндифосфатом

MgГДФ – сполучення магнію з гуаніндифосфатом

MgУДФ – сполучення магнію з урідиндифосфатом

mtNOS – мітохондріальна NO-синтаза

NBD1 і NBD2 – гідрофільні АТФ-зв'язуючі домени

nNOS – нейрональна NO-синтаза

NO – оксид азоту

NO_2^- – нітрит-аніон

NO_2^\bullet – радикал діоксиду азоту

NO_3^- – нітрат-аніон

NO-синтаза – нітрооксид синтаза

$O_2^{\bullet -}$ – супероксид-аніон

ONOO⁻ – пероксинітрит

[•]OH – гідроксильний радикал

p38MAPK – міоген-активуєма протеїнкіназа p38

PBR – периферійний бенздіазепіновий рецептор мітохондріальної пори

Pi – неорганічний фосфор

PKA – протеїнкіназа A

PKB – протеїнкіназа B

PKB/Akt – протеїнкіназа B, що має в складі білки, кодовані генами Akt1, -2, -3

PKC – протеїнкіназа C

PKG – протеїнкіназа G

PRPP – 5-фосфо-'альфа'-D-рібоза-1-дифосфат

ROMK (Kir1) – мембранний канал

RSNO – нітрозотіоли

SNPs – алельні поліморфізми

SUR1, SUR2A, SUR2B, SURx – субодиниці K_{АТФ}-каналу

TMD0, TMD1 и TMD2 – ділянки у структурі SUR субодиниці K_{АТР}-каналу

TxB₂ – тромбоксан B₂

V₂ – субстратне дихання

V₃ – АДФ-стимульоване дихання

V₄ – контрольоване дихання

V_ф – швидкість фосфорилування

Walker motifs – місця для прикріплення та гідролізу нуклеотидів на комплексі

SUR субодиниць K_{АТР}-каналів

Σ₅ – загальна світлосума ХЛ за 5 хв

ВСТУП

Актуальність теми. Важливою проблемою сучасної фізіології та патофізіології є визначення ендогенних механізмів захисту серця та збереження його функції при ішемії міокарда. Незважаючи на істотний прогрес у профілактиці та лікуванні серцево-судинних захворювань вони все ще залишаються основною причиною смертності (67 %) та інвалідності населення у більшості країн світу [10, 13]. В Україні за останні 30 років їх поширеність зросла в 3,5 раза, а рівень смертності від них – на 46 % [10]. У структурі захворюваності першими є гіпертонічна – 41 % та ішемічна хвороба серця – 28 % [10, 13].

Одним із основних ендогенних механізмів захисту організму від гіпоксії та ішемії є активація АТФ-чутливих калієвих (K_{ATP}) каналів. В кардіопротекції виділяють K_{ATP} -канали сарколемальних (сарко- K_{ATP}) і мітохондріальних (міто- K_{ATP}) мембран [126, 436, 487, 574], що були відкриті відповідно Noma (1983) і Inoue (1991) [289, 398]. Їх особливістю є властивість відкриватися у відповідь на зниження внутрішньоклітинної концентрації АТФ $[ATP]_i$ нижче від мілімолярних значень [295, 393, 396], що дає змогу вважати цей тип каналу центральним метаболічним сенсором клітини щодо її енергозабезпечення [396, 403, 580]. K_{ATP} -канали реалізують взаємозв'язок між енергоресурсом серця (вмістом АТФ), його електричною та скоротливою функціями [27, 189, 191, 575, 580]. Це наразі один з небагатьох прикладів взаємозв'язку молекулярних механізмів з ендогенним захистом серця при порушенні його функції [295, 396].

Основними відомостями про кардіопротекторну роль активації SUR-рецепторів K_{ATP} -каналів є зменшення цитоплазматичної концентрації кальцію [295, 395] та, вірогідно, пригнічення кальцій-залежних процесів [243, 568]. Пригнічення вільнорадикальних процесів разом із збереженням АТФ також може запобігати значним пошкодженням міокарда у разі відновлення оксигенації при збільшенні цитоплазматичного кальцію за реперфузії [206, 255, 298, 395]. Відкривання міто- K_{ATP} -каналів зменшує навантаження мітохондрій кальцієм [277,

487, 548] та пригнічує утворення вільних радикалів [399], що відповідно, попереджує відкривання неспецифічної мітохондріальної транспортної пори (МП) [249, 265], процеси апоптозу та некрозу [265, 322, 499, 549], сприяє збереженню при ішемії структури і функції мітохондрій.

Незважаючи на те, що протекторна роль K_{ATP} -каналів не викликає сумнівів і їх вважають кінцевими ефекторами захисних антиішемічного захисту [207, 272, 366, 533, 565], а сучасні уявлення вказують на їх можливу участь як проміжної ланки (медіатора) і, навіть, тригера кардіопротекції [411, 546], механізми кардіопротекції досі залишаються мало дослідженими [20, 22, 149, 441]. Нині невідомо, як активація цих каналів впливає на метаболізм такого важливого медіатора, як оксид азоту, його біосинтез різними шляхами – окисним (активність ферментів ендотеліальної NO-синтази (eNOS) та індукцибельної NO-синтази (iNOS)) та неокисним реутилізаційним (активність нітратредуктази). Не з'ясовано вплив активації K_{ATP} -каналів на активність катаболітичних ферментів (а саме: фосфоліпази A_2 , ліпоксигенази, циклооксигенази тощо), утворення патогенних за ішемії міокарда ейкозаноїдів (зокрема, лейкотрієнів та тромбоксанів) та вільної арахідонової кислоти. Недостатньо вивченими при активації цих каналів та ішемії-реперфузії міокарда є зміни ферментативного та перекисного окиснені ліпідів, утворення активних форм кисню (АФК) та азоту (АФА), вплив на активність ферментів антиоксидантної системи (АОС), процеси деградації АТФ, зміну активності гемоксигенази, метаболізм потенційного активатора eNOS сфінгозину, токсична чи антиоксидантна дії сечовини та сечової кислоти; збереження нормальної структури та функції міокарда та мітохондрій, внесок у кардіопротекцію активації K_{ATP} -каналів мітохондріальної та сарколемальної мембран.

Невідомо про поширення алельних поліморфізмів (SNPs) генів, що кодують Kir6.x та SUR-рецептори K_{ATP} -каналу у мешканців України та їх можлива роль як генетичних факторів ризику захворювань серця, зокрема, серцевої недостатності. Не вивченим залишається і рівень експресії цих каналних білків у тварин різного віку, в т. ч. у спонтанно гіпертензивних щурів (SHR) та їх можлива роль в

механізмах декомпенсації недостатності серця.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами. Робота виконувалася в рамках тематичних планів відділу загальної та молекулярної патофізіології (до 2007 р. відділ експериментальної кардіології) Інституту фізіології ім. О.О. Богомольця НАН України, тем-грантів за договорами між НАН України та Державною адміністрацією м. Києва, за комплексними та інноваційними програмами Президії НАН України та Державного комітету України з питань науки, інновацій та інформатизації, Державної цільової науково-технічної програми розроблення новітніх технологій створення вітчизняних лікарських засобів для забезпечення охорони здоров'я та задоволення потреб ветеринарної медицини.

Автор був відповідальним виконавцем 5 тематичних розділів відділу Інституту фізіології ім. О.О. Богомольця НАНУ та 11 грантів (три з яких трирічні), а саме: 2001-2003 рр. “Розробка нового кардіопротекторного препарату – фторвмісного активатора АТФ-залежних калієвих каналів та обґрунтування його використання при патології серця”, № держреєстрації 0019840044388; 2004-2006 рр. „Дослідження кардіопротекторних властивостей нових вітчизняних фторвмісних активаторів АТФ-залежних калієвих каналів”, № держреєстрації 0104U008941; 2005 р. „Розробка та підготовка до впровадження нового вітчизняного кардіопротекторного препарату – фторвмісного активатора АТФ-залежних калієвих каналів”, № держреєстрації 0105U00856; 2006 р. „Завершення комплексних хімічних, токсико-фармакологічних і біологічних досліджень та впровадження нового фторвмісного міотропного спазмолітика і кардіопротектора флокаліна”, № держреєстрації 0106U012492; 2007 р. „Організація заводського виготовлення нового міотропного спазмолітика і кардіопротектора препарату Флокалін, проведення комплексних досліджень специфічної дії, токсичності лікарської форми заводського виготовлення та отримання дозволу на клінічні дослідження I фази”, № держреєстрації 0107U005325; 2007-2009 рр. „Дослідження механізмів захисту міокарда при активації АТФ-залежних калієвих каналів новими вітчизняними фторвмісними активаторами”, № держреєстрації

0107U005334; 2010 р. “Впровадження нового вітчизняного препарату “Флокалін”, кардіопротектора і спазмолітика – виробництво субстанції та препарату “Флокалін” в заводських умовах”, № держреєстрації 0110U004754; 2013 р. ”Молекулярно-генетичні та фармакологічні засоби для терапії ішемічної патології мозку та серця”, № держреєстрації 0013U006469; 2013 р. “Створення таргетної бібліотеки прототипів лікарських засобів в порівнянні захворювань ішемічної природи”, № держреєстрації 0113U002592; 2014 р. ”Розробка новітніх нейро- та кардіопротекторних агентів на базі модуляторів іонних каналів”, № держреєстрації 0114U003645; 2015 р. ”Розробка інноваційних фокусних бібліотек малих молекул проти ішемічних захворювань серця та головного мозку”, № держреєстрації 0115U003736.

Мета та завдання дослідження. Метою роботи було дослідження впливу активації SUR-рецепторів K_{ATP} -каналів на кардіогемодинаміку та біохімічні показники за фізіологічних умов та ішемії-реперфузії міокарда, і можливого зв'язку серцевої недостатності з алельним поліморфізмом та експресією генів, що кодують ці канали.

Відповідно до мети роботи були поставлені такі **завдання**:

1. Вивчити дію активації SUR-рецепторів на загальну електричну активність та іонний транспорт через плазматичну мембрану, кардіогемодинаміку, вільнорадикальні процеси, активність ферментів каталази, СОД, iNOS та cNOS, деградацію АТФ, гемоксигеназну реакцію та утворення вільної арахідонової кислоти, як маркера активності фосфоліпази A_2 .
2. Вивчити вплив активації SUR-рецепторів K_{ATP} -каналів на функцію серця та кардіогемодинаміку при ішемії-реперфузії міокарда.
3. Дослідити дію активації SUR-рецепторів при ішемії-реперфузії міокарда на окисний метаболізм (пули H_2O_2 , сечової кислоти, дієнових кон'югатів (ДК), малонового діальдегіду (МДА), лейкотриєну C_4 (LTC_4) та тромбоксану B_2 (TxB_2), активність ферментів АОС – каталази та супероксиддисмутази (СОД), біосинтез NO різними шляхами – окисним (активність iNOS, cNOS) та неокисним реутилізаційним (активність нітратредуктази), неокисний

катаболізм L-аргініну, деградацію АТФ, зміни в гемоксигеназній реакції, вміст вільної арахідонової кислоти та сфінгозину.

4. Вивчити дію активації SUR-рецепторів K_{ATP} -каналів при ішемії-реперфузії міокарда на ультраструктурні зміни та розмір зони інфаркту міокарда.
5. Дослідити вплив стимуляції SUR-рецепторів на дихання мітохондрій, Ca^{2+} -індуковане відкривання мітохондріальної пори (МП), апоптоз та некроз при аноксії-реоксигенації ізольованих неонатальних кардіоміоцитів.
6. Визначити оптимальну для кардіопротекції ступінь активації SUR-рецепторів та роль K_{ATP} -каналів сарколемальних та мітохондріальних мембран у захисті міокарда при ішемії-реперфузії.
7. Вивчити поширення алельних поліморфізмів Glu23Lys та Ile337Val гена KCNJ11 (Kir6.2) і Ser1369Ala гена ABCC8 (SUR1) в українській популяції та окреслити їх можливий зв'язок із захворюванням на серцеву недостатність.
8. Визначити рівень експресії генів, що кодують SUR1, SUR2, Kir6.1 та Kir6.2 у щурів лінії Wistar-Kyoto та SHR різного віку.

Об'єкт дослідження. K_{ATP} -канали клітинних мембран.

Предмет дослідження. Механізми кардіопротекторної дії активації SUR-рецепторів K_{ATP} -каналів клітинних мембран.

Методи дослідження. В роботі використовували молекулярно-генетичні, електрофізіологічні, біохімічні, морфологічні, функціональні методи та статистичний аналіз. Генотипування мешканців України щодо поширення алельних поліморфізмів генів, що кодують Kir6.x-канали та SUR-рецептори та експресію SUR1, SUR2, Kir6.1 та Kir6.2 білків (рівень мРНК) у щурів лінії Wistar-Kyoto та SHR різного віку було проведено за допомогою молекулярно-генетичних методів, зокрема, за допомогою полімеразної ланцюгової реакції (PCR). Виділення ДНК проводили із застосуванням наборів NeoPrep50 (Неоген, Україна). Алельний поліморфізм Glu23Lys та Ile337Val гена KCNJ11 та Ser1369Ala гена ABCC8 визначали за допомогою системи 7500 Fast Real-time PCR System (Applied Biosystems, Foster City, USA), із застосуванням Taq-Man® Fast Universal PCR Master Mix, TaqMan® SNP Assay C_11654065_10, C_2991148_10 та C_600632_20

відповідно. Для визначення експресії SUR та Kir6.x РНК екстрагували із міокарда SHR та Wistar-Kyoto щурів. Зворотну транскрипцію проводили із використанням RevertAid First Strand cDNA Synthesis Kit (Thermo Scientific, США). Отриману одноланцюгову ДНК використовували для полімеразної ланцюгової реакції із застосуванням праймерів: Kir6.1 Up 5'-TCT CTT CTC CAT CGA GGT TCA-3', Kir6.1 Dw 5'-CTG CAG AAT CAA AAC CGT GAT-3'; Kir6.2 Up 5'-ATG AGAGAA AGG GGG ACA AGA-3', Kir6.2 Dw 5'-AGG CTG GAG TCA AGG GTA GAG-3'; SUR1 Up 5'-GGG CTT CTG GTG ATC CTC TAC-3', SUR1 Dw 5'-GGC TTT ACT TCC CTT GGT GTC-3'; SUR2 Up 5'-GCT CTG GAA ATT GCT CAG TTG-3', SUR2 Dw 5'-CTG TCC AAC GCT GAA GTT CTC-3'. Для контролю за якістю виділення РНК та порівняння інтенсивності експресії генів KCNJ8, KCNJ11, ABCC8 та ABCC9 паралельно ампліфікували фрагмент гену β -актину – одного із house-keeping генів з використанням наступних праймерів: Beta-actin Up 5'-AAG TCC CTC ACC CTC CCA AAA-3', Beta-actin Dw 5'-AAG CAA TGC TGT CAC CTT CCC-3'. Концентрацію загального ДНК і РНК визначали за допомогою NanoDrop спектрофотометра ND1000 (NanoDrop Technologies Inc., США). Ефекти активації SUR-рецепторів калієвих каналів на загальну електричну активність та іонний мембранний транспорт вивчали за допомогою електрофізіологічного методу “patch clamp” на ізольованих неонатальних кардіоміоцитах щурів та на клітинах HEK-293 зі стабільною гетерологічною експресією Kir6.2 і SUR2A (клітини HEK-293_{6.2/2A}), що утворюють кардіоспецифічний K_{ATP} -канал (сарко- K_{ATP} -канали кардіоміоцитів), та в дослідях на ізольованих мітохондріях серця і печінки щурів з використанням K^+ -селективного електрода (міто- K_{ATP} -канали) відповідно. Експерименти з активацією та блокадою вищезазначених каналів за використання інгібіторів K_{ATP} -каналів Гбк та 5-ГД (специфічний інгібітор міто- K_{ATP} -каналів) у дослідях на ізольованих смужках аорти та ізольованому, перфузованому за Лангендорфом серці щурів і морських свинок дало змогу визначити дію активації SUR-рецепторів на функцію серця та відносний внесок у кардіопротекцію каналів мітохондріальної та сарколемальної мембран. Вплив на серцево-судинну систему досліджували в експериментах на ізольованих судинних

смушках, ізольованому та перфузованому за Лангендорфом серці тварин та в експериментах *in vivo* на анестезованих собаках. На суспензії ізольованих мітохондрій вивчали їх дихання (за допомогою двокамерного оксиграфа Oxugraph 2K (Oroboros Instruments, Австрія)) та Ca^{2+} -індуковане відкривання МП. Вплив стимуляції SUR-рецепторів на зміни біохімічних показників у плазмі крові та різних зон серця за умов близьких до фізіологічних та за ішемії-реперфузії міокарда здійснювали за допомогою біохімічних методів. Кардіопротекторні ефекти вивчали в експериментах з ішемією-реперфузією ізольованого, перфузованому за Лангендорфом серці (20 хв ішемії та 40 хв реперфузії), локальною ішемією-реперфузією лівого шлуночка анестезованих собак (90 хв ішемії та 180 хв реперфузії) та за аноксії-реоксигенації ізольованих неонатальних кардіоміоцитів щурів (30 хв аноксії та 60 хв реоксигенації). Ультраструктуру міокарда після ішемії-реперфузії визначали електронно-мікроскопічним методом, а розмір інфаркту – планіметрично. Отримані результати обробляли математично за відповідними методами варіаційної статистики.

Наукова новизна одержаних результатів. В роботі представлено нові механізми кардіопротекторної дії активації SUR-рецепторів K_{ATP} -каналів при ішемії-реперфузії міокарда. Вперше проведено генотипування в українській популяції щодо поширення алельних поліморфізмів генів *KCNJ11* та *ABCC8*, що кодують Kir6.2 та SUR1 субодиниці K_{ATP} -каналу, та виявлено їх зв'язок з таким захворюванням як серцева недостатність. Вперше визначено значно меншу експресію Kir6.1, Kir6.2 та SUR2 білків у дорослих щурів лінії SHR та SUR1 і SUR2 у старих 18-місячних SHR щурів порівняно зі щурами Wistar-Kyoto, що, вірогідно, може бути одним із механізмів декомпенсації недостатності серця.

Показано, що захисний ефект активації SUR калієвих каналів реалізується за рахунок комплексних механізмів, в основі яких лежать гальмівні процеси, що включають кардіогемодинаміку і зміну метаболізму. До перших можна віднести помірне зниження артеріального тиску, що послаблює навантаження на уражене ішемізоване серце і сприяє збереженню серцевого викиду в перші години ішемії, попередження реперфузійного підвищення загально-периферичного опору та

опору коронарних судин, відносно збереження показників скоротливості міокарда у період реперфузії. До другого – попередження значного зростання надлишкового індукбельного і реутилізаційного та, навпаки, підвищення протективного конститутивного синтезу оксиду азоту та пригнічення деградації L-аргініну аргіназою; значне зниження оксидативного та нітрозативного стресу в т.ч. за рахунок підвищення активності ферментів антиоксидантної системи – каталази та супероксиддисмутази; зменшення утворення патогенних в умовах ішемії міокарда LTC_4 та TxB_2 , які можуть мати коронарконстрикторну, аритмогенну та прооксидантну дію; пригнічення деградації АТФ, стимуляцію стресзахисної гемоксигеназної реакції та зменшення утворення сечовини та сечової кислоти, які у високих концентраціях є токсичними, а у низьких – антиоксидантами, та підвищення вмісту сфінгозину, який у фосфорильованій формі може підвищувати активність cNOS; мембраностабілізуюча дія як результат пригнічення активності фосфоліпази A_2 та зменшення деградації мембранних фосфоліпідів (про що свідчить зниження вмісту вільної арахідонової кислоти).

Свідченням потужної антиішемічної дії активації SUR є інгібування реутилізаційного синтезу оксиду азоту, який має місце винятково в умовах ішемії, та підвищення вмісту нітрит-аніона, який утворюється спонтанно при окисненні оксиду азоту лише в оксигенованих розчинах. Всі вищеперераховані кардіопротекторні механізми сприяють збереженню цілісності сарколеми та структури внутрішньоклітинних органел, попереджують деструкцію мітохондрій та апоптоз кардіоміоцитів, зменшують розмір некротичної ділянки міокарда на 40%.

Виявлено, що оптимальною для кардіопротекції є помірна активація SUR-рецепторів $\text{K}_{\text{АТФ}}$ -каналів, а в антиішемічному захисті міокарда канали мітохондріальної мембрани більшою мірою відповідають за підтримання скоротливої активності міокарда, тоді як сарколемальної – за коронарний кровообіг.

За допомогою молекулярно-генетичних досліджень вперше показано, що

поширення алельних поліморфізмів Ile337Val та Glu23Lys гена KCNJ11 та поліморфізму Ser1369Ala гена ABCC8, що кодують Kir6.2 та SUR1 відповідно, в українській популяції практично не відрізняється від населення європейської та є близьким до азійської. Вперше встановлено, що у хворих на хронічну серцеву недостатність спостерігається зменшення генотипів з мінорною гомозиготою цих поліморфізмів, що корелює з найменшими патологічними змінами за показниками ехокардіографії, зокрема, з найменшою масою лівого шлуночка, його кінцево-систоличним та кінцево-діастолічним об'ємом. Водночас найбільші патологічні зміни за цих поліморфізмів мають носії гетерозигот.

Вперше показано, що рівень експресії Kir6.1, Kir6.2 та SUR2 субодиниць сарколемальних K_{ATP} -каналів у дорослих 6-місячних SHR щурів значно менший порівняно зі щурами Wistar-Kyoto такого ж віку, що ймовірно може бути однією із причин підвищеного судинного тиску. Вірогідно, що значно менша експресія регуляторних рецепторів SUR1 та SUR2 у старих 18-місячних SHR щурів може бути одним із механізмів декомпенсації недостатності серця.

Наукова новизна підтверджена отриманням 10 Патентів України.

Практичне значення одержаних результатів. Результати роботи розкривають суть одного із центральних ендогенних механізмів захисту від ішемії – активації SUR-рецепторів K_{ATP} -каналів клітинних мембран. Представлені механізми кардіопротекції є обґрунтуванням для створення новітніх методів профілактики та лікування серцево-судинних захворювань. Основні положення роботи планується ввести в навчальний процес у вищих учбових закладах відповідного профілю. Отримані результати лягли в основу комплексних медико-біологічних досліджень зі створення нових лікарських засобів, активаторів вищезгаданих каналів, проведення їх токсикологічних та доклінічних випробувань. Робота має практичний вихід в медичну галузь – розроблений та підготовлений до клінічних досліджень новий вітчизняний міотропний спазмолітик та кардіопротектор «Флокалін», лікарська форма якого була виготовлена на базі ПАТ НВЦ «Борщагівський хіміко-фармацевтичний завод».

Найбільш сучасним методом фармакотерапії захворювань людини є

фармакогенетичний метод, що дає змогу індивідуалізувати лікування певного хворого. Представлена в роботі залежність патогенезу такого захворювання як серцева недостатність від генетичних особливостей людини (зокрема, алельні поліморфізми Ile337Val та Glu23Lys гена KCNJ11 та Ser1369Ala гена ABCC8, що кодують Kir6.2 та SUR1 субодиниці K_{ATP} -каналів) та результати щодо значно меншого рівня експресії регуляторних SUR1- та SUR2-рецепторів з віком у спонтанно гіпертензивних щурів, що ймовірно у них є одним із механізмів декомпенсації недостатності серця, може бути використано для розроблення нових методів лікування цього захворювання, зокрема, на базі ДУ ННЦ «Інститут кардіології ім. академіка М.Д. Стражеско» НАМН України.

Особистий внесок здобувача. Внесок автора в отриманні експериментальних матеріалів дисертації є основним. Мету, завдання роботи, методи досліджень, аналіз літературних та отриманих матеріалів роботи проведено, опубліковано та викладено в представлений дисертаційній роботі особисто. Деякі дослідження проводились комплексно: морфологічні – разом з н.с. Л.В. Тумановською, біохімічні – з пр.н.с. А.В. Коцюрбою, електрофізіологічні – з д.б.н., професором Я.М. Шубою, дихання-фосфорилування ізольованих мітохондрій – з д.б.н., професором Г.Д. Міроновою та співробітниками Інституту теоретичної та експериментальної біофізики РАН, Пущино, РФ. Результати клінічних досліджень отримані разом із співробітниками відділу серцевої недостатності ДУ ННЦ «Інститут кардіології ім. академіка М.Д. Стражеско» НАМН України д.м.н., професором Л.Г. Воронковим та к.м.н. І.Д. Мазур. Безпосередня консультативна допомога надавалася д.мед.н., професором, академіком НАН України О.О. Мойбенком. Незначні відомості про властивості нових фторвмісних аналогів діазоксиду – ДіазоФм, ДіазоФп, проводилися сумісно з аспірантом Пивовар С.М. при безпосередньому керівництві автора цієї роботи (про що свідчать сумісні наукові публікації) та можуть бути представлені в її дисертаційній роботі на здобуття наукового ступеня кандидата біологічних наук «Ендогенні механізми кардіопротекції: роль активації мітохондріальних ATP -чутливих калієвих каналів» (2005 р).

Апробація результатів дисертації. 3rd FEPS Congress, Federation of European Physiological Societies (Nice, France, 2003); 5th International Conference “Hypoxia in Medicine” (Innsbruck, Austria, 2003); Конгресс ассоциации кардиологов стран СНГ: «Фундаментальные исследования и прогресс в кардиологии» (Санкт-Петербург, Росія, 2003); Конференція дорослих вчених Інституту фізіології ім. ОО Богомольця “Фундаментальні дослідження в сучасній фізіології” (Київ, 2003); III Всероссийская с международным участием школа-конференция по физиологии кровообращения, посвящённая 250-летию МГУ им. М.В. Ломоносова (Москва, Россия, 2004); XIX съезд физиологического общества им. И.П. Павлова (Екатеринбург, Россия, 2004); II Міжнародна наукова конференція «Гомеостаз: фізіологія, патологія, фармакологія і клініка» (Одеса, 2005); Всероссийская конференция молодых исследователей «Физиология и медицина» (Санкт-Петербург, Россия, 2005); 9-тая международная пушкинская школа конференция молодых ученых «Биология наука XXI века» 9-тая международная пушкинская школа конференция молодых ученых (Пушино, Россия, 2005); “4-th Conference on Mitochondrial physiology” (Schroben, Vorarlberg, Austria, 2005); XVII з’їзд Українського фізіологічного товариства з міжнародною участю (Чернівці, 2006); Joint meeting of the German Physiological Society and the Federation of European Physiological Societies, (Munich, Germany, 2006); Всеукраїнська конференція «Актуальні питання патологічної фізіології» (Ялта, 2006); Науково-практична конференція «VI читання ім. В.В. Підвисоцького, присвячених до 150-річчя з дня народження» (Одеса, 2007); 8-th Meeting of France – New EU Members, 16-th JMRC Symposium “New Frontiers in Cardiovascular Research” (Krakow, Poland, 2008); V Національний конгрес патофізіологів України з міжнародною участю «Сучасні проблеми патофізіології: від молекулярно-генетичних до інтегративних аспектів» (Запоріжжя, 2008); Науково-практична конференція «VIII – читання ім. В.В. Підвисоцького» (Одеса, 2009); 3rd International Conference on Drug Discovery and Therapy (Dubai, UAE, 2011); The Biophysical Society 55th Annual Meeting in Baltimore, (Maryland, USA, 2011); III Международная конференция «Биологически активные вещества:

фундаментальные и прикладные вопросы получения и применения» (Новий Світ, 2011); Науково-практична конференція «XX – читання ім. В.В. Підвисоцького» (Одеса, 2011); III съезд физиологов СНГ «Физиология и здоровье человека» (Ялта, 2011); Пятая всероссийская школа-конференция по физиологии кровообращения (Москва, Россия, 2012); VIII Всероссийская конференция с международным участием «Механизмы функционирования висцеральных систем» (Санкт-Петербург, Россия, 2012); Российский национальный конгресс кардиологов «Кардиология: от науки – к практике» (Санкт-Петербург, Россия, 2013); VI пленум наукового товариства патофізіологів України та науково-практичної конференції за участю міжнародних спеціалістів «Актуальні питання експериментальної та клінічної патофізіології» (Вінниця-Хмільник, 2014); Форум “Наука. Бізнес. Інновації” (Київ, 2015); Heart Failure Winter Research Meeting (Les Diablerets, Switzerland, 2016); «XV – читання ім. В.В. Підвисоцького» (Одеса, 2016); VI Конференції Української асоціації фахівців із серцевої недостатності «Хронічна серцева недостатність в Україні: пріоритетні шляхи вирішення проблеми» (Київ, 2016); “Heart Failure: state of the art” (Florence, Italy, 2016); International Symposium "Biological Motility" (Pushchino, Russia, 2016); XVII національний конгрес кардіологів України (Київ, 2016).

Публікації. За результатами дисертації опубліковано 84 наукових праці, у т.ч. розділ у монографії, 41 стаття, з яких закордонних – 12 та у фахових виданнях з переліку МОН України – 29, 10 патентів України, 32 матеріалів конференцій.

Обсяг і структура дисертації. Матеріали дисертації викладені на 440 сторінках (із них основного тексту 302), які містять: анотацію, вступ, огляд літератури, розділ «Матеріали та методи досліджень», 5 розділів експериментальних досліджень, заключення та висновки), список використаної літератури, що включає 582 джерела, з яких 102 кирилицею та 480 латиною, та додаток. Робота містить: 138 рисунків, 73 таблиці і 2 схеми.

РОЗДІЛ 1

КАТФ-КАНАЛИ, ЯК ОДИН ІЗ ГОЛОВНИХ МЕХАНІЗМІВ ЕНДОГЕННОГО
ЗАХИСТУ СЕРЦЯ ЗА ІШЕМІЇ
(огляд літератури)

1.1 Енергозабезпечення міокарда та наслідки його порушення за ішемії

Основними причинами порушення енергозабезпечення міокарда є зниження постачання кисню та енергоресурсів при зменшенні притоку крові, дисфункція мітохондрій (зниження синтезу АТФ), порушення сигналізації для забезпечення чіткої відповідності між витратами і утворенням макроергічних сполук та порушення їх транспорту до місць використання [211, 449]. Незважаючи на те, що відносна вага серця становить всього біля 0,5 % ваги тіла, воно є одним з найбільш інтенсивно працюючих органів та витрачає близько 10 % кисню, що споживається організмом. Отже, міокард є тканиною, що потребує значного притоку кисню [14, 377, 530]. Значні енергетичні витрати міокарда зумовлені його регулярною скоротливою функцією (роботою), для підтримання чого необхідне забезпечення нормального метаболізму та іонного гомеостазу кардіоміоцитів, що потребує постійного притоку та вироблення енергоресурсів. Універсальним джерелом енергії в клітині є АТФ, ресурс якого весь час використовується та поповнюється в процесі метаболізму. Зокрема, за фізіологічних умов повне оновлення молекул АТФ в кардіоміоциті практично відбувається за кожні 10 секунд [14, 404]. Основним механізмом утворення вищезгаданої макроергічної сполуки в клітині є окисне фосфорилування в мітохондріях, 90 % енергетичних потреб якої задовольняється за рахунок дихання мітохондрій [449]. Для генерації АТФ кардіоміоцити використовують будь-які доступні субстрати: глюкозу, жирні кислоти, лактат, кетоніві тіла та амінокислоти [14, 377, 530]. Проте основна частка енергії, необхідної для синтезу АТФ (близько 50-70 %) отримується при β-окисненні жирних кислот (ЖК) [484]. Постійна механічна робота міокарда та

значні енергозатрати змінили структуру та характер метаболічних процесів кардіоміоцитів. Мітохондрії займають близько 34 % об'єму кардіоміоцита, міофібрили – близько 48 %, ще 1,5 % займає саркоплазматичний ретикулум (СПР) та Т-система. На інші органели приходить біля 16,5% об'єму [14, 60, 61].

Ефективний спосіб отримання енергії – окиснення вуглеводів, жирів і білків, в катаболізмі яких виділяють три основні стадії [65, 338]. На першій стадії під впливом складних ферментативних систем великі молекули розщеплюються на менші – вуглеводи розщеплюються до пентоз і гексоз, ліпіди – до гліцерину і ЖК, білки – до амінокислот. На другій стадії з амінокислот утворюються ацетил-КоА, α -кетоглутарова і щавлевооцетова кислоти. ЖК за β -окиснення перетворюються на ацетил-КоА [200, 454, 526]. Гексози при дії ферментативних систем гліколізу розщеплюються до піровиноградної кислоти, яка в процесі окиснювального декарбоксилювання також перетворюється на ацетил-КоА [65, 417, 484]. За рахунок гліколізу утворюється 5-10 % загальної кількості АТФ. Водночас гліколіз є процесом, за якого при перетворенні субстратів енергія вивільнюється за умов відсутності кисню. На третій стадії катаболізму, за якої α -кетоглутарова і щавлевооцетова кислоти, та ацетил-КоА в аеробних умовах окиснюються в мітохондріях у циклі трикарбонових кислот і дихальному ланцюгу до води та CO_2 зі звільненням великої кількості енергії, яка акумулюється в АТФ. У вищезгаданому циклі за дії специфічних дегідрогеназ (НАД- та ФАД-залежні) відбувається дегідрування субстратів (відщеплення молекул H_2). При цьому протони і електрони переносяться на мітохондріальний дихальний ланцюг – поліферментну систему, локалізовану у внутрішній мембрані мітохондрій, що складається з переносників електронів та передає відновні еквіваленти кінцевому акцептору електронів – молекулярному кисню. Її основними компонентами є НАД-залежна дегідрогеназа, флавопротеїди і цитохроми.

Водночас в міокарді, скелетних м'язах та нервових клітинах існує ще одне депо макроергічних фосфатних зв'язків – креатинфосфат, який використовується для швидкого ресинтезу АТФ [203, 581]. Тобто, з початком інтенсивної роботи (декілька секунд) чи гіпоксії у м'язах та нервових клітинах, коли запаси АТФ

швидко вичерпуються, а процеси його синтезу (аеробне окиснення глюкози, анаеробний гліколіз, β -окиснення ЖК) лише запускаються чи прискорюються – креатинфосфат віддає свій фосфатний залишок, разом з енергією, на молекулу АДФ, з утворенням АТФ та креатину [203, 581].

Важливим для нормального енергозабезпечення міокарда є варіабельність у використанні поживних речовин залежно від умов роботи. Вибір субстрату залежить від його вмісту в крові та скоротливої активності серця. За фізіологічних умов при нормальному постачанні кисню кардіоміоцити переважно використовують ЖК, що забезпечує вироблення 60-90 % АТФ [14, 349]. У разі збільшення функціонального навантаження потрібно прискорити процес синтезу АТФ, а отже, посилюється катаболізм глюкози [349]. При кисневому дефіциті економнішим є використання глюкози як субстрату, оскільки на її розщеплення витрачається менше молекул кисню, ніж на ЖК [65, 141]. Посилене окиснення ЖК за умов гіпоксії збільшує використання кисню та призводить до ще більшого кисневого дефіциту [349]. Таку лабільність у виборі енергетичного субстрату можна розглядати як пристосування міокарда до різних умов функціонування. Незважаючи на взаємне пригнічення процесів окиснення конкуруючого субстрату, найкраще енергозабезпечення міокарда для нормальної функції серця відбувається при окисненні ЖК та глюкози одночасно [14, 505].

Таким чином, необхідна для акумуляції енергія виділяється завдяки процесам гліколізу і дихання. Проте якщо за гліколізу вивільняється лише незначна частина енергії, яка потенційно може виділятися при розщепленні молекули субстрату, то його повне окиснення в процесі дихання супроводжується звільненням значно більшої кількості енергії. Зокрема, у разі окисненні однієї молекули глюкози при гліколізі утворюється 2 молекули АТФ, тоді як подальше розщеплювання продуктів гліколізу в циклі Кребса супроводжується синтезом 38 молекул АТФ. Отже, розщеплення поживних речовин повністю можливе лише за нормального забезпечення тканин киснем [65, 338].

Дуже важливим для нормальної функції міокарда є чітка кореляція між витратами та синтезом АТФ. Зокрема, при скороченні серця міокардом

витрачається близько 90 % енергоресурсів. Тобто, утворення макроергічних молекул практично не перевищує її утилізацію [377, 449]. Ця тонка рівновага проявляється постійністю загального вмісту АТФ та креатинфосфату в кардіоміоциті [125, 278, 449]. Отже, за для забезпечення чіткої відповідності між вжитком кисню і витратами енергоресурсів повинні існувати внутрішньоклітинні механізми сигналізації про енергетичний стан кардіоміоцита [119, 449].

Вважається, що одним із головних регуляторів метаболізму є кальцій, який є активатором багатьох ферментів та іонних трансмембранних переносників, зокрема, регулює активність як міозину і АТФ-ази СПР, так і дегідрогенази та АТФ-синтетази в мітохондріях [107, 120, 125, 206, 382].

Важлива роль у міокарді належить АМФ-залежній протеїнкіназі (АМФ-ПК), яка регулює як β -окиснення ЖК [457], так і розщеплення глюкози та гліколіз [299, 341, 453]. АМФ-ПК діє як "датчик палива", зменшуючи β -окиснення ЖК в періоди низького попиту на енергоресурси та посилюючи під час підвищеного попиту, внаслідок змін (посилення або зменшення) її інгібуючої дії на активність ацетил-КоА-карбоксилази (АКК) і, відповідно, рівня малоніл-КоА [14]. Відомо, що активність АМФ-ПК посилює збільшення утворення АМФ при деградації АТФ, метаболічний стрес та зростання співвідношення креатин/креатинфосфат [199, 258, 259].

Іншим необхідним чинником для нормального енергетичного метаболізму у міокарді є наявність транспортних систем для макроергічних фосфатів. Зокрема, в кардіоміоцитах як енергетичні переносники працюють аденілат- та креатинкіназні (АК та КК) системи [135]. У разі окисного фосфорилування за допомогою АТФ/АДФ-антипортера АТФ з матриксу мітохондрій переноситься в міжмембранний простір, де за участю мітохондріальної КК в трансферазній реакції, утворюється креатинфосфат та АДФ [201, 203, 581]. Останній знову починає стимулювати процеси дихання мітохондрій та використовується в окисному фосфорилуванні для утворення АТФ. Такий функціональний взаємозв'язок між КК та АТФ-азними системами ефективно контролює співвідношення АТФ/АДФ на певних ділянках. Відповідно, локальне зниження

значення АТФ/АДФ сприяє продукції енергії в мітохондріях, а його збільшення – витратам енергії в цитозолі [14, 203, 581]. Взаємозв'язок цих ділянок відбувається через реакції, що є близькі до рівноважних (каталізуються КК), внаслідок яких фосфатна група швидко транспортується до АТФ-ази, а метаболічний сигнал передається до мітохондрії [201].

Отже, механізми, що залучені до синтезу і використання АТФ, не відбуваються випадково, а включені в структурні та функціональні елементи клітин. Відомо, що в кардіоміоцитах гліколітичні ферменти організовані в надмолекулярні комплекси і пов'язані з міофіламентами і СПР, де вони беруть участь у локальній продукції енергії, яка найбільш доступна для використання іонними насосами та іншими мембранними структурами [278, 449, 552]. Водночас сама наявність енергетичних зв'язків між мітохондріями та місцями використання АТФ свідчить, що локальне утворення АДФ ефективніше стимулює мітохондріальне дихання, ніж утворення АДФ у всій клітині [272]. Також відомо, що енергетична регуляція в клітині залежить від просторового розташування органел та функціональних комплексів. У кардіоміоцитах мітохондрії разом із сусідніми АДФ-генеруючими системами в міофібрилах та СПР розглядаються як функціональні одиниці, що представляють основу структурної організації енергетичного метаболізму в кардіоміоцитах [278, 449, 458]. В останніх більшість мітохондрій розташовані безпосередньо під сакролемою та між міофіламентами таким чином, що існує постійна відстань для дифузії органічних молекул та АТФ між мітохондріями та міофіламентами [14, 449, 530]. Така просторова структура кардіоміоцита є ще одною необхідною для нормального метаболічного енергозабезпечення міокарда умовою [278, 449].

Отже, механізми, що залучені до синтезу і використання АТФ, не відбуваються спонтанно, а є частиною чітко організованої структури та функції клітин, просторового розташування органел та функціональних комплексів. Підтримка енергетичного гомеостазу в кардіоміоцитах потребує постійного притоку кисню і поживних речовин, та варіабельності у використанні останніх відповідно до умов функціонування міокарда. Основним вважається стабільність

високого вмісту креатинфосфату і АТФ в кардіоміоциті та наявність сигналізації, що забезпечує чітку відповідність між їх витратами та продукцією, забезпечення цитоплазматичного транспорту АТФ з мітохондрій до місць його утилізації та ефективного зворотного зв'язку від ділянок утилізації енергії. Надважливою є локальна регуляція співвідношення АТФ/АДФ поблизу АТФ-аз, нормальна функція останніх у СПР, а також АТФ-синтетази і дегідрогеназ в мітохондріях, а також збереження функції АМФ-залежної протейнінази та таких транспортних систем, як АК і КК.

За фізіологічних умов НАД-ділянка дихального ланцюга мітохондрій може приймати відновні еквіваленти (іони водню, протони) від субстратів циклу Кребса (за дії дегідрогеназ), від реакцій окиснення ЖК (за дії оксиацил-КоА-дегідрогеназ) та окиснювального декарбоксилування (піруватдегідрогеназа) та з утвореного в центральній реакції гліколітичної оксидоредукції немітохондріального НАД-Н. При гіпоксії потужний потік відновних еквівалентів не може бути використаним через гіпервідновленість НАД-залежної ділянки дихального ланцюга. Це призводить до зупинки основної енергетичної системи клітин та суттєвого зниження синтезу АТФ [21, 65, 418].

Одним із компенсаторних механізмів у разі дефіциту кисню є активація процесів анаеробного гліколізу, який тимчасово компенсує обмеження у синтезі АТФ [64, 65]. Незважаючи на його низьку продуктивність, загалом він може забезпечити енерговитрати організму. Проте для здійснення гліколітичних реакцій необхідна окиснена форма НАД, постачання якої за нормоксії забезпечується роботою специфічних переносників. Гліколітичний НАД-Н проникає через мітохондріальні мембрани, в основному, за допомогою функціонування α -гліцерофосфатного та β -оксибутиратного механізмів перенесення відновних еквівалентів [65]. За нормоксії вони пригнічують лактатдегідрогеназний (ЛДГ) механізм окиснення гліколітичного НАД-Н. В умовах гострої гіпоксії, за порушення електрон-транспортної функції редокс-ланцюга та значного зниження її НАД-ділянки, кінцевий продукт гліколізу піруват не декарбоксилується і не залучається до циклу Кребса, а, відновившись

від цитоплазматичного НАД-Н, перетворюється на лактат, що супроводжується утворенням окисненої форми НАД. Активація ЛДГ-механізму постачання НАД для гліколізу зрештою приводить до виснаження запасів глікогена і тканинного ацидозу, внаслідок накопичення кислих продуктів метаболізму: лактату, пірувату, гліцерофосфату, оксибутирату тощо. Надлишкові концентрації кінцевого субстрату анаеробного гліколізу лактату пригнічують останню реакцію гліколітичного циклу. Регенерація НАД припиняється і, саме дефіцит піридиннуклеотиду зупиняє гліколіз та анаеробну продукцію АТФ. Клітинний ацидоз призводить до порушення проникності цитомембран, руйнування лізосом, виходу у цитоплазму аутолітичних ферментів та деградації клітин [298, 329, 509].

Таким чином, у разі глибокої гіпоксії чи ішемії за рахунок гліколізу міокард неспроможний ліквідувати необхідний для підтримання нормальної скоротливої функції та процесів анаболізму дефіцит АТФ. Дисбаланс окиснення ЖК та глюкози у бік перших є одним із основних факторів ушкодження та дисфункції міокарда. Накопичення амфифільних молекул ЖК у мембранах призводить до порушення їх структури, конфігурації та змін електрофізіологічної рівноваги. Зайве скупчення ЖК на рівні органел (СПР і мітохондрій) та одночасне посилення вільнорадикальних процесів може призвести до порушень їх функції [12].

Отже, зменшення утворення АТФ (на тлі швидкого зниження запасів іншої макроергічної сполуки – креатинфосфату) є основним фактором пошкодження за гіпоксії та ішемії, при якому відбувається порушення обміну речовин, функції клітин та руйнація ультраструктури. Слід зауважити, що швидкість зниження цитозольного креатинфосфату значно вища, ніж АТФ. Вірогідно, це обумовлено його прискореним використанням на ресинтез останнього та порушенням транспорту з мітохондрій. При гіпоксії в міокарді також знижується активність КК. Проте з початком реперфузії відновлення рівня креатинфосфату відбувається досить швидко. Зокрема, при короткочасній гіпоксії його вміст відновлюється за 5 хв. Водночас вміст АТФ відновлюється значно повільніше, ймовірно, через розпад частини пуринових нуклеотидів [203, 581].

Головними змінами обміну речовин за гіпоксії міокарда є зміни

вуглеводного, білкового, ліпідного та водно-електролітного обміну.

За першого, як згадувалося, посилюється анаеробний гліколіз. За нормоксії АТФ і креатинфосфат пригнічують ферменти гліколізу, водночас за гіпоксії їх кількість зменшується, а отже активність ферментів гліколізу зростає. Водночас активаторами останніх є продукти деградації вищезазначених макроергічних сполук, вміст яких за гіпоксії значно збільшується. По-друге, активація гліколізу та зниження утилізації лактату призводить до накопичення піровиноградної і молочної кислот та відбувається метаболічний ацидоз внаслідок нагромадження органічних кислот. По-третє, посилення активності симпатoadреналової системи призводить до вичерпання запасів глікогену [64, 296, 329, 509].

Зміни ліпідного обміну спричиняють інтенсивний розпад ліпідів та, навпаки, сповільнюють їх синтез. Накопичення ЖК у тканинах призводить до зв'язування внутрішньоклітинних іонів та сприяє зменшенню спряження процесів окисного фосфорилування, та, відповідно, синтезу АТФ у мітохондріях, що значно поглиблює енергетичний дефіцит міокарда. Водночас накопичення кетокислот поглиблює ацидоз [64, 296].

У разі змін білкового обміну, внаслідок ацидозу відбувається активація лізосомних протеаз, нуклеаз та прискорення розпаду білків [298, 329, 509]. Пригнічується синтез останніх, тобто процеси катаболізму переважають над анаболізмом. Водночас збільшення вмісту залишкового азоту та аміаку може зв'язувати компоненти циклу трикарбонових кислот (зокрема, α -кетоглутарову кислоту) та порушувати його роботу зі зменшенням синтезу АТФ [296, 329, 509].

Ішемія порушує роботу іонних насосів та обмінників, що спричиняє зміни водно-електролітного обміну. Особливе значення має зниження активності Na^+, K^+ -АТФ-ази, що підтримує високий рівень калію в клітині, а натрію зовні. Зниження її активності призводить до цитоплазматичного набухання та інших дисфункцій кардіоміоцита [413, 572].

Найбільшого значення у ішемічному пошкодженні мають наступні механізми.

Іонний механізм. Значна частина енергоресурсів кардіоміоцитів

витрачається на роботу іонних насосів клітинних мембран. Зменшення вмісту АТФ призводить до пригнічення роботи цих мембранних структур. Зокрема, відбувається порушення функції таких іон-транспортних насосів та обмінників цитоплазматичної та мітохондріальної мембран, ендоплазматичного ретикулуму, як Na^+, K^+ -АТФази, $\text{Ca}^{2+}, \text{Mg}^{2+}$ -АТФ-ази, Ca^{2+} -АТФ-ази, $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ -обмінники та інші [107, 382, 572] (рис. 1.1). Дисбаланс іонів K^+ , Na^+ та Ca^{2+} лежить в основі порушення таких процесів серцевого м'яза, як збудження, скорочення, розслаблення та ритмогенезу [12]. За значного поглиблення енергодефіциту при ішемії міокарда процеси дисфункції та деструкції в кардіоміоцитах посилюються та можуть набути необоротного характеру. Унаслідок зниження активності Na^+, K^+ -АТФази саркоплазмальної мембрани (потребує майже 40 % АТФ) значно збільшується цитоплазматична концентрація натрію, а іонів калію навпаки – зменшується [477]. Значну патогенну роль за ішемії приписують $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ -обміннику. За фізіологічних умов він видаляє іони кальцію з цитоплазми в обмін на іони натрію [107, 206]. Збільшення останнього за рахунок пригнічення роботи Na^+, K^+ -АТФази при ішемії та збільшення активності Na^+/H^+ -обмінника та $\text{Na}^+/\text{HCO}_3^-$ -симпортера (внаслідок ацидозу цитоплазми через посилення анаеробного метаболізму) призводить до реверсії роботи $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ -обмінника та збільшення цитоплазматичного вмісту іонів кальцію [120, 206, 382]. Порушення функції $\text{Ca}^{2+}, \text{Mg}^{2+}$ -АТФ-ази та Ca^{2+} -АТФ-ази також призводить до збільшення цитоплазматичного кальцію, наслідком чого може бути посилення метаболізму та ще більші енерговитрати [107, 120, 211, 382]. Значне збільшення вмісту цитоплазматичного кальцію може спровокувати гіперконтрактури міофіламентів та некроз кардіоміоцитів [208, 298, 331, 485]. Надмірне накопичення іонів кальцію в матриксі мітохондрій пригнічує процеси окиснення та фосфорилювання, що призводить до поглиблення дефіциту енергії, спричиняє їх деструкцію та дисфункцію, відкривання МП, запускає такі механізми клітинної загибелі як апоптоз та некроз [124, 206, 481]. Водночас збільшення рівня іонів водню за ішемії призводить до ацидозу та дестабілізації мембрани лізосом. Наслідком чого може бути активація лізосомних ферментів та індукція аутолізу

внутрішньоклітинних структур [296, 329, 509].

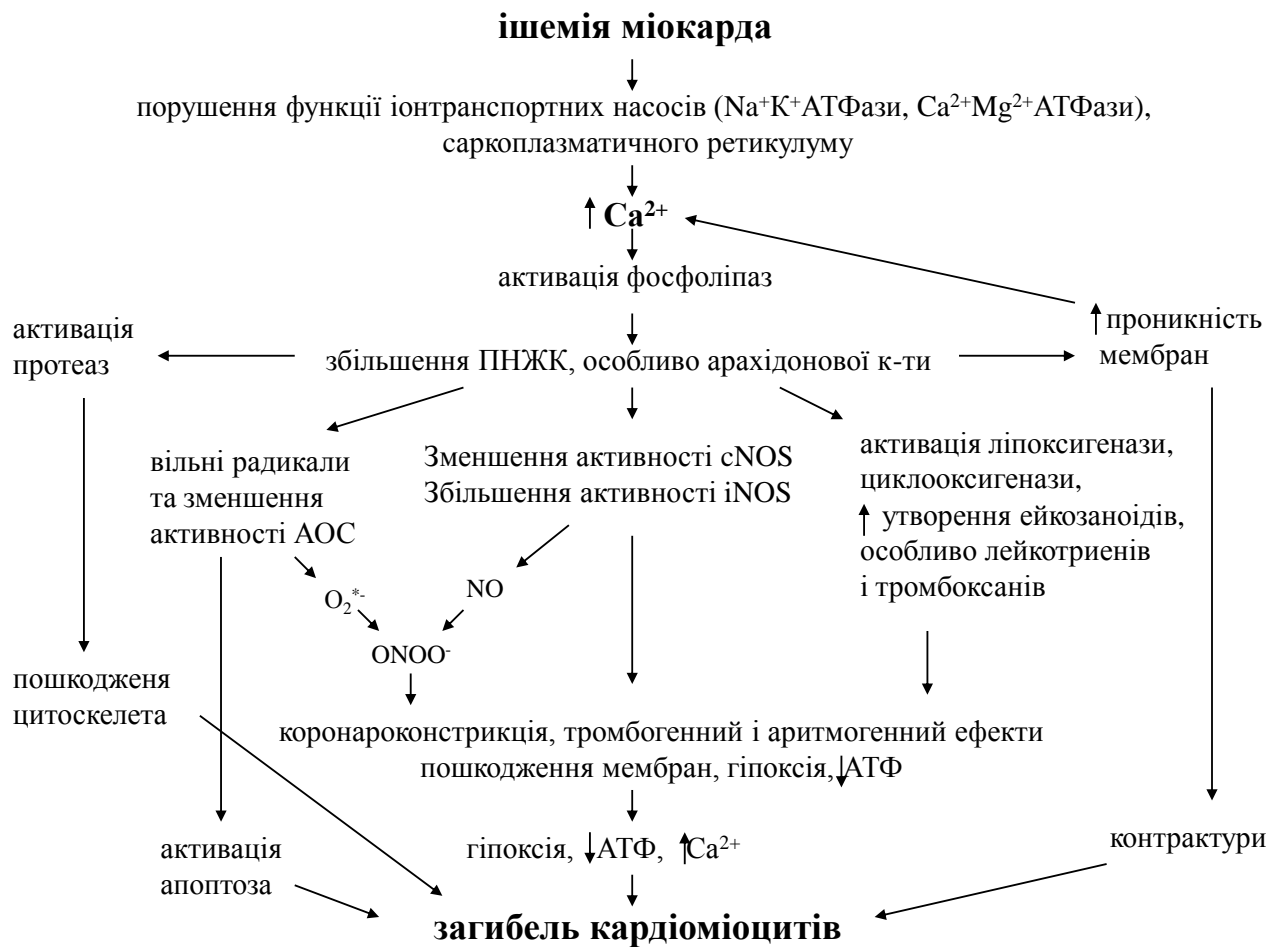


Рис. 1.1 Можливі механізми пошкодження міокарда за ішемії.

Ліпідні механізми. Збільшення за ішемії цитоплазматичного кальцію та посилене виділення катехоламінів наднирниками [517] призводить до активації ліпаз та, відповідно, деградації ліпідів. Водночас ЖК при ішемії в процесі β-окиснення розщеплюються не повністю і не зовсім утилізуються в циклі Кребса. Збільшений цитозольний рівень іонів кальцію активує фосфоліпазу A_2 та, відповідно, деградацію фосфоліпідів клітинних мембран, в т.ч. мітохондріальних. При пошкодженні мембран зростає їх проникність та відповідно ще більше збільшується вміст цитозольного кальцію та активація фосфоліпаз [17, 19, 215, 283] (див. рис. 1.1). Поглиблення енергодефіциту значно збільшує утворення вільних радикалів та цитозольний вміст поліненасичених жирних кислот (зокрема

арахідонової та лінолевої) та клітина гине [26].

Утворення патогенних за ішемії ейкозаноїдів. Разом із збільшенням утворення вільної арахідонової кислоти (внаслідок посилення активності фосфоліпази A_2) відбувається активація оксидазних ферментів – циклооксигенази та, особливо, ліпоксигенази [26, 220, 406, 508], та посилення патологічних процесів:

- збільшення утворення лейкотриєнів, тромбоксанів, ліпоксинів та лізофосфоліпідів, що мають виражену аритмогенну, коронароконстрикторну та проагрегатну дію.
- лейкотрієни є одним з найбільш потужних хемоатрактантів для нейтрофілів, що сприяє накопиченню поліморфно-ядерних нейтрофілів – клітин із значним прооксидантним, ліпоксигеназним та протеолітичним потенціалом;
- посилюється утворення вільних радикалів, зокрема, супероксид-аніону, за активації ліпоксигеназ та циклооксигеназ.

Відбувається подальше погіршення функції, пошкодження мембран та структури кардіоміоцита [24, 220, 332, 406, 531].

Вільнорадикальний механізм. В умовах енергодефіциту за ішемії міокарда спостерігається надмірна інтенсифікація ПОЛ, що обумовлює ушкодження білкових і ліпідних компонентів клітинних мембран [211, 384]. Надмірна ліпопероксидація та зниження мікрров'язкості ліпідного бішару суттєво впливає на активність мембранозв'язаних ферментів та іонних транспортерів, що регулюють трансмембранний перенос катіонів (зокрема, Na^+, K^+ -АТФзи, Ca^{2+}, Mg^{2+} -АТФзи, Ca^{2+} -АТФзи, Na^+/Ca^{2+} -обмінники та інші). Порушення структурної цілісності мембран та детергентні ефекти продуктів ПОЛ обумовлюють неконтрольований потік катіонів, збільшується рівень цитозольного кальцію, продовжується пошкодження мембран та поглиблюються патологічні процеси.

Пригнічення ферментів антиоксидантної системи (АОС). Відомо, що ішемія приводить до істотного зниження активності ферментів АОС: СОД, каталази, глутатіонпероксидази, глутатіонтрансферази та глутатіонредуктази. Причому активність двох перших ферментів починає знижуватися першою [66,

225, 431]. Ймовірно пригніченню активності цих ферментів може сприяти зниження рівня АТФ, різке підвищення вмісту АФК (особливо OH^{\bullet} -радикалу) та ацидоз, що розвивається в ішемізованих тканинах та посилює енергодефіцит [2, 139, 443, 523]. Проте причина різкого зниження активності ферментів АОС за ішемії досі повністю не вивчена.

Зміни у системі оксиду азоту. NO є гідрофобним та ліпофільним газом (з періодом напіврозпаду 2 – 30 с) з властивостями, що роблять його надзвичайно доступним посередником багатьох внутрішньо- та зовнішньо-клітинних реакцій та одним із найважливіших біологічних медіаторів. В організмі NO синтезується за допомогою трьох ізоформ ферменту NO-синтази (ендотеліальна (eNOS), нейрональна (nNOS) та індукцйбельна (iNOS), за допомогою яких оксид азоту утворюється з амінокислоти L-аргініну) та трьох редуктаз: нітрит-, нітратредуктаз, та молібден-вмісного ксантиноксидоредуктазного комплексу.

До nNOS відносять також мітохондріальну NO-синтазу (mtNOS), яка разом з eNOS є Ca^{2+} -залежними і працюють за фізіологічних умов. Вони синтезують NO в невеликих кількостях та відносяться до, так званих, конститутивних форм (cNOS). На відміну від них, iNOS є Ca^{2+} -незалежною, активується практично лише за патологічних станів, забезпечує синтез NO протягом тривалого часу та в кількостях, що перевищують продукцію NO в нормі в тисячу разів. Аналогічне потужне утворення NO відбувається також за активації нітритредуктаз [4, 31, 57, 63, 194]. Утворення оксиду азоту редуктазним шляхом відбувається виключно за умов ішемії, адже ці реакції проходять без участі молекулярного кисню. Зокрема, нітритредуктазні системи пов'язані з білками, що містять гем – гемоглобіном, міоглобіном, цитохромоксидазою та цитохромом P-450, які можуть в дезоксиформі відновлювати нітрит-аніони до NO [31, 57, 174]. Зокрема, молібден-вмісний ксантиноксидоредуктазний комплекс переносить протони на NO_2^- з утворенням азотистої кислоти за ацидозу в зоні ішемії, та збільшує вміст NO порівняно з нормою на два порядки [31, 57, 582].

Відомо, що за ішемії відбувається пригнічення утворення протективного конституційного оксиду азоту та, навпаки, активується синтез надлишкового

індуцибельного оксиду азоту [4, 31]. Активація iNOS призводить до довготривалого значного підвищення рівня NO. Значно посилюється його вироблення також через нітрит- та нітратредуктазні системи та не ферментативним способом. Зростає судинна проникність та формується набряк, в наслідок чого розвиваються запальні реакції. При цьому, взаємодія NO з супероксидом (вміст якого за ішемії досягає 0,01-0,1 ммоль/л) генерує високотоксичний пероксинітрит (ONOO^-), який руйнує клітинні мембрани та інші внутрішньоклітинні структури за рахунок їх нітрозування чи окиснення. Відбувається нітрозативний та оксидативний стрес. Водночас за його розкладання по радикальному шляху, утворюється не менш токсичний гідроксильний радикал ($\cdot\text{OH}$) [446]. За зниження рівня АТФ відбувається підвищення вмісту гіпоксантину, а ксантиндегідрогеназа перетворюється в ксантиноксидазу, яка генерує супероксид.

Приплив молекулярного кисню за реперфузії та збільшений вміст цитоплазматичного кальцію прискорює утворення активних форм кисню та азоту. Відбувається посилення ПОЛ і утворення перекисів ліпідів, що збільшують проникність мембран для кальцію і активують фосфоліпазу A_2 . Що ще більше посилює експресію iNOS, збільшує вміст адгезивних молекул, тромбоцитів, лейкотриєнів, TxA_2 та інших індукторів запалення. Відбувається активація нейтрофілів, їх прикріплення до реперфузійної тканини та ще більшого синтезу супероксиду, NO та пероксинітриту [30, 31, 58, 443].

Лізосомні механізми. Значну роль в патогенезі ушкодження міокарда за ішемії відіграють лізосоми, що активуються катехоламінами, глюкагоном, протеїнкіназами та гідроперекисами ліпідів [517]. Зокрема, аденілатциклазне генерування цАМФ, цАМФ-залежна протеїнкіназа та кальцій можуть призводити до фосфорилювання білків лізосомних мембран. Значну роль в активації лізосом відіграє також ушкодження та дестабілізація мембранних ліпідів за ацидозу, зокрема за анаеробного гліколізу при ішемії. Вихід у цитоплазму лізосомних гідролаз веде до неконтрольованого ураження міокарда [296, 298, 302, 509]. Активація протеаз та збільшений цитозольний кальцій (за порушення функції іон-

транспортних систем) за ішемії призводить до локальних контрактур міофібрилл, їх лізис та ушкодження цитоскелету, розвиваються процеси некрозу [298].

Катехоламінові механізми. При гіпоксії збільшується виділення катехоламінів – адреналіну і норадреналіну [190, 517]. Основним чинником їх патологічної дії за ішемії міокарда слід вважати посилення скоротливої роботи серця (внаслідок підвищення цитозольного кальцію). Разом з цим, надлишок катехоламінів призводить до підвищення системного судинного тиску, що в сукупності з посиленням скоротливості міокарда протягом тривалого часу спричиняє гіпертрофію останнього. Водночас коронарний кровотік не може забезпечити потреби в енергоресурсах гіпертрофованого міокарда та виникають його метаболічні і структурні пошкодження. Негативним фактором дії катехоламінів за ішемії є також підвищення продуктів метаболізму фосфатдилінозиту, активація аденілатциклази і підвищення рівнів цАМФ, що може призводити до активації лізосом, руйнування мембран та загибелі кардіоміоцитів [296, 302, 509, 517].

Отже, міокард є дуже чутливим до нестачі кисню за ішемії. Слід зауважити, що до пошкодження кардіоміоцитів ведуть всі вищезгадані механізми, дія яких переплітається, посилюється та може призводити до не зворотних ушкоджень міокарда. Проте у відповідь на зменшення забезпечення міокарда киснем та дефіцит АТФ є ендогенні захисні, пристосувальні та компенсаторні механізми.

1.2 К_{АТФ}-канали, як метаболічний сенсор енергодефіциту.

Загальні компенсаторні реакції організму у відповідь на гіпоксію та ішемію є досить складними, реалізуються на всіх рівнях, від системного до молекулярного, та умовно поділяють на дихальні, гемодинамічні, тканинні та зміни у системі крові. Дихальні реакції проявляються задишкою, збільшенням частоти та глибини дихання, що виникають у відповідь на подразнення хеморецепторів дуги аорти і синокаротидної зони гіпоксичною кров'ю, та збільшують гіпервентиляцію легень. До гемодинамічних реакцій відносять

перерозподіл кровопостачання. За дефіциту кисню посилюється кровопостачання серця, мозку та кровообіг в альвеолах легень, та зменшується периферичний кровообіг. Тахікардія разом з підвищенням ударного об'єму серця призводить до збільшення серцевого викиду крові та прискорення кровотоку. Зміни у системі крові включають еритроцитоз та збільшення заряду гемоглобіну в еритроцитах [190, 517]. До тканинних компенсаторних реакцій відносять відкривання K_{ATP} -каналів внутрішньої мітохондріальної та сарколемальної мембран, зменшення внутрішньоклітинного рівня кальцію та послаблення обміну речовин, активацію гліколізу та ферментів дихального ланцюга. Індукцією специфічних для гіпоксії компенсаторних реакцій, що супроводжуються експресією мРНК, білків та генів, необхідних для забезпечення утворення та запуску термінової захисної реакції організму [14, 18, 233, 501].

Компенсаторні та адаптативні до гіпоксії реакції організму поділяють на термінові та відстрочені [14, 18]. До останніх відносять утворення ген-залежних реакцій довгострокової адаптації, що підвищують резистентність організму. Особлива роль в цьому процесі відводиться специфічному гетеродимерному редокс-чутливому білку Hif-1 (Hypoxia Inducible Factor), що складається з двох субодиниць – кисень-чутливої Hif-1 α і субодиниці Hif-1 β . Ідентифіковано близько 100 генів-цілей для Hif-1 α , що беруть участь в довгостроковій адаптації до гіпоксії [467-469, 488]. Відомо, що за нормоксії вміст субодиниць Hif-1 α є низьким [21, 56, 62, 353]. За дефіциту кисню створюються передумови для їх збільшення та накопичення, індукції процесів транскрипції, їх транслокації в ядро та гетеродімеризації з Hif-1 β . Внаслідок чого утворюються транскрипційно-активні комплекси (HRE), відбувається експресія Hif-1-залежних генів-цілей і, відповідно, синтез захисних адаптативних до гіпоксії білків. Активність вищезазначеної кисень-чутливої субодиниці білку Hif-1 регулюється шляхом гіпоксичної трансдукції сигналу, в основі якої лежить кисеньзалежна посттрансляційна модифікація [21, 56, 488].

Проте одним з найважливіших механізмів ендогенного захисту міокарда за гіпоксії та ішемії є функціональна активність K_{ATP} -каналів [105, 487], які були

відкриті трохи більше 30 років тому [398]. А. Нома показав, що за гіпоксії чи пригніченні дихання мітохондрій за допомогою ціанідів у сарколемальній мембрані кардіоміоцитів відбувається трансмембранне переміщення іонів калію, інтенсивність якого залежала від вмісту в клітині АТФ. Як виявилось, цей потік іонів відбувався через невідомий раніше тип калієвих каналів та пригнічувався за підвищення внутріклітинного вмісту АТФ ($[ATP]_i$) понад 1 ммоль/л. Нома запропонував, що новий K_{ATP} -канал є важливим регулятором клітинного енергетичного метаболізму в контролі мембранної збудливості [398]. Як з'ясувалося пізніше, дійсно, вищезгадані канали пов'язують біоенергетичний стан клітин з їх збудливістю та мембранним потенціалом [189, 575]. Водночас за зменшення $[ATP]_i$ нижче зазначеного рівня спостерігається швидке відкривання цих каналів та гіперполяризація цитоплазматичної мембрани. Що надалі було підтверджено багатьма іншими дослідниками [105, 197, 316]. Це характерно для більшості K_{ATP} -каналів, зокрема, в м'язах, легенях, ендотелії та нейронах, за виключенням β -клітин підшлункової залози, в яких основну роль відіграє не рівень $[ATP]_i$, а співвідношення АТФ/АДФ [234, 300, 569]. Виходячи з того, що за фізіологічних умов внутрішньоклітинна концентрація АТФ відповідає мілімолярним рівням ($\sim 3-5$ ммоль/л) K_{ATP} -канали знаходяться в інгібованому стані [219, 271, 570]. Виняток становлять лише K_{ATP} -канали панкреатичних β -клітин, де при значному зменшенні рівня глюкози, навіть за досить високої $[ATP]_i$, ~ 3 ммоль/л, близько 10% вищезазначених каналів від їх загальної кількості можуть відкриватися та підтримувати високе трансмембранне переміщення іонів калію [105, 568]. Це виключення із загальної закономірності є повністю зрозумілим і направлено на нормальне функціонування організму. За зниження рівня глюкози в крові (зокрема, до 2-3 ммоль/л) в β -клітинах зменшується співвідношення АТФ/АДФ і, як наслідок, активуються K_{ATP} -канали. Відбувається гіперполяризація плазматичної мембрани, зменшення входу в клітину та концентрації цитоплазматичного Ca^{2+} та секреції інсуліну [197, 568]. Підвищення рівня глюкози після прийняття їжі (насамперед вище 5,5 ммоль/л) приводить до збільшення вмісту $[ATP]_i$, закривання K_{ATP} -каналів і деполяризації

плазматичної мембрани β -клітин підшлункової залози. При цьому активуються потенціал-залежні Ca^{2+} -канали, збільшується внутрішньоклітинна концентрація іонів Ca^{2+} і екзоцитоз гранул з інсуліном [317, 328, 519].

Відкривання K_{ATP} -каналів відбувається лише за зміни гомеостазу, досить часто патологічного характеру, зазвичай пов'язаного із зменшенням рівнів $[\text{ATP}]$ [105, 295, 403, 487]. Слід зауважити, що для їх відкривання може бути достатньо зменшення вмісту АТФ лише в області плазматичної мембрани, тоді як загальний рівень $[\text{ATP}]$ в клітині буде мілімолярним, за якого активація даних каналів здавалася б неможливою [271]. Процеси їх відкривання/інгібування при зменшенні/збільшенні $[\text{ATP}]$ мають дозозалежний характер та залежать від підтипу K_{ATP} -каналу [105, 300, 428]. Відомо, що цей канал має октаметричну структуру - пара каналу утворюється чотирма Kir6.x субодинацями, які зовні оточуються чотирма SUR субодинацями (рис.1.2), [118, 185, 370, 378] і, щонайменше, чотирма допоміжними білками - АК та КК першого типу, м'язову форму лактатдегідрогенази (ЛДГ-м) і гліцероальдегід 3-фосфатдегідрогенази (GAPDH) [158, 176, 178, 304, 305].

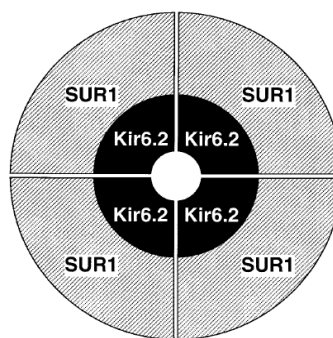


Рис.1.2 Октаметрична структура K_{ATP} -каналу (по Т. Miki et al., 1999) [370].

Є декілька різновидів субодинаць, які відрізняються між собою за складом трансмембранних доменів і визначають специфічні властивості каналу. Принаймні дві Kir6.x субодинаці – Kir6.1 та Kir6.2, та три SUR-рецептори – SUR1, SUR2A та SUR2B [165, 185, 472, 575]. Комбінації цих білків утворюють різні підтипи K_{ATP} -каналів, які визначають їх властивості та відповідають певним тканинам організму [395, 575]. Зокрема, комбінація SUR2B/Kir6.1 переважно

відповідає судинним ГМК. Проте у ворітній вені виявлено також підтип SUR2B/Kir6.2, який проявляє спонтанну активність на окремих ділянках мембрани, високу чутливість до інгібуючої дії АТФ ($K_{1/2 \text{ АТФ}} \approx 20$ мкмоль/л) та підвищену провідність, подібну до провідності SUR2A/Kir6.2 у кардіоміоцитах. Підтип SUR2B/Kir6.2 відповідає також переважно не судинним ГМК. SUR2B, Kir6.1 та Kir6.2 – ендотеліальним клітинам коронарних судин [356] та аорти [314, 315, 365]. SUR2A/Kir6.2 – скелетним м'язам, SUR1/Kir6.2 – панкреатичним β -клітинам [395, 575]. В яєчках та кардіоміоцитах зустрічаються всі 5 вище перерахованих субодиниць. Проте для останніх комбінація SUR2A/Kir6.2 є найбільш поширеною [369, 379, 395, 575]. Слід зауважити, що у мишей сарколемальні канали кардіоміоцитів передсердя складаються переважно з SUR1/Kir6.2, тоді як у шлуночках з SUR2A/Kir6.2 [218, 238]. Можливо, що у великих тварин та людей такої чіткої диференціації цих SUR білків у структурі каналу клітин передсердя та шлуночків немає [214]. Ситуація зі структурою $K_{\text{АТФ}}$ -каналів клітин сіноатриальних вузлів та провідних пучків є ще більш запутаною [253]. Можлива присутність як Kir6.2, так і Kir6.1 білків [230]. Крім того, субодиниця SUR1 є частиною $K_{\text{АТФ}}$ -каналу нейрональних клітин та внутрішньої мембрани мітохондрій. Згодом виявилось, що цей канал, в подальшому названий міто- $K_{\text{АТФ}}$ -каналом, задіяний в механізмах кардіопротекції. Зокрема, в ішемічному пре- та посткондиціонуванні [126, 255, 420, 436].

Раніше вважали, що міто- $K_{\text{АТФ}}$ -канал складається з SUR1 і Kir6.1 [281, 347], проте пізніше виявилось, що структура цих каналів значно складніша [395]. За сучасними уявленнями він утворюється модифікованими SUR1 та ROMK2 (Kir1) субодиницями, та має значно складнішу структуру ніж канал плазматичної мембрани [222, 395]. За Ardehali et al (2004, 2005) макромолекулярний комплекс каналу складається з ключового ферменту циклу Кребса і електрон-транспортного ланцюжка – сукцинатдегідрогенази, мітохондріальної АТФ-зв'язуючої касети протеїну-1 (mABC-1), АТФ-синтази, аденіннуклеотидтранслокази, фосфатних білків-переносників та невідомих компонентів, що утворюють каналну пору [114, 115]. У 2012 р. останні були ідентифіковані як ROMK2 [222]. Відомо, що

крім мітохондрій в клітині K_{ATP} -канали також є на мембранах ядер [430] та ендоплазматичного ретикулума (Kir6.2/SUR1 чи SUR2) [459], інсулін-секреторних гранул β -клітин (SUR1/Kir6.2) [409, 527] та зимогенних гранулах ацинарних клітин (Kir6.1) підшлункової залози [318]. Нервові K_{ATP} -канали переважно складаються з комбінації SUR1/Kir6.2, проте варіанти SUR2B/Kir6.1, та SUR2B/Kir6.2 також присутні [403].

Таким чином, K_{ATP} -канали в різних тканинах мають різну чутливість до модуляторів їх активності. Крім того, значення напівмаксимального рівня відкривання/інгібування каналів одного підтипу може бути в досить широкому діапазоні. Для гладеньких м'язів він спостерігається за $[ATP]_i$ в межах 10-200 мкмоль/л, міоцитів судин 29-40 мкмоль/л, міоцитів скелетних м'язів 17-135 мкмоль/л, для кардіоміоцитів в межах 20-30 мкмоль/л і в панкреатичних β -клітинах в межах 15-40 мкмоль/л [271, 428]. Це вірогідно пов'язано з тим, що чутливість вищезазначених каналів до АТФ може змінюватися в залежності від метаболічних процесів, внутрішньоклітинного рівня та співвідношення інших нуклеотидфосфатів (АДФ, ГТФ, УТФ, ІТФ, ЦТФ, АМФ), вмісту двовалентних іонів (особливо – Mg^{2+}), SH-редокс стану, присутності ЖК, мембранних фосфоліпідів, рН, активності протеїнкіназ та деяких інших факторів, що діють опосередковано, зокрема, АФК (H_2O_2 , O^{2-} , $^*OH^-$) та оксиду азоту [221, 252, 271, 343, 351, 416, 476, 570]. В експериментальних дослідженнях чутливість каналу може залежати від методу дослідження. Зокрема, напівмаксимальне відкривання одиночного K_{ATP} -каналу міоциту аорти і ворітної вени відбувається при рівні $[ATP]_i$ 30-40 мкмоль/л, в експериментах на цілій клітині при 100 мкмоль/л [428]. Водночас в експериментах на ізольованих везикулах клітинної мембрани кардіоміоцита напівмаксимальна активація K_{ATP} -каналу відбувається за рівня $[ATP]_i$ 100 мкмоль/л; в експериментах на цілій клітині – 20-30 мкмоль/л [269], а напівмаксимальний рівень відкривання вищезазначених каналів в кардіоміоцитах при зменшенні рН з 7,25 до 6,25 збільшувався з 25 до 50 мкмоль/л [568].

Слід зауважити, що насамперед ступінь відкривання/інгібування каналу залежить від стану нуклеотид-зв'язуючих ділянок каналу та співвідношення

інгібуючих та стимулюючих канал нуклеотидів, а саме АТФ і АДФ відповідно. Відомо, SUR субодиниця (~ 160 kDa) каналу є регуляторною та відноситься до нуклеотид-зв'язуючих білків (рис. 1.3, SUR-рецептор, виділено зеленим).

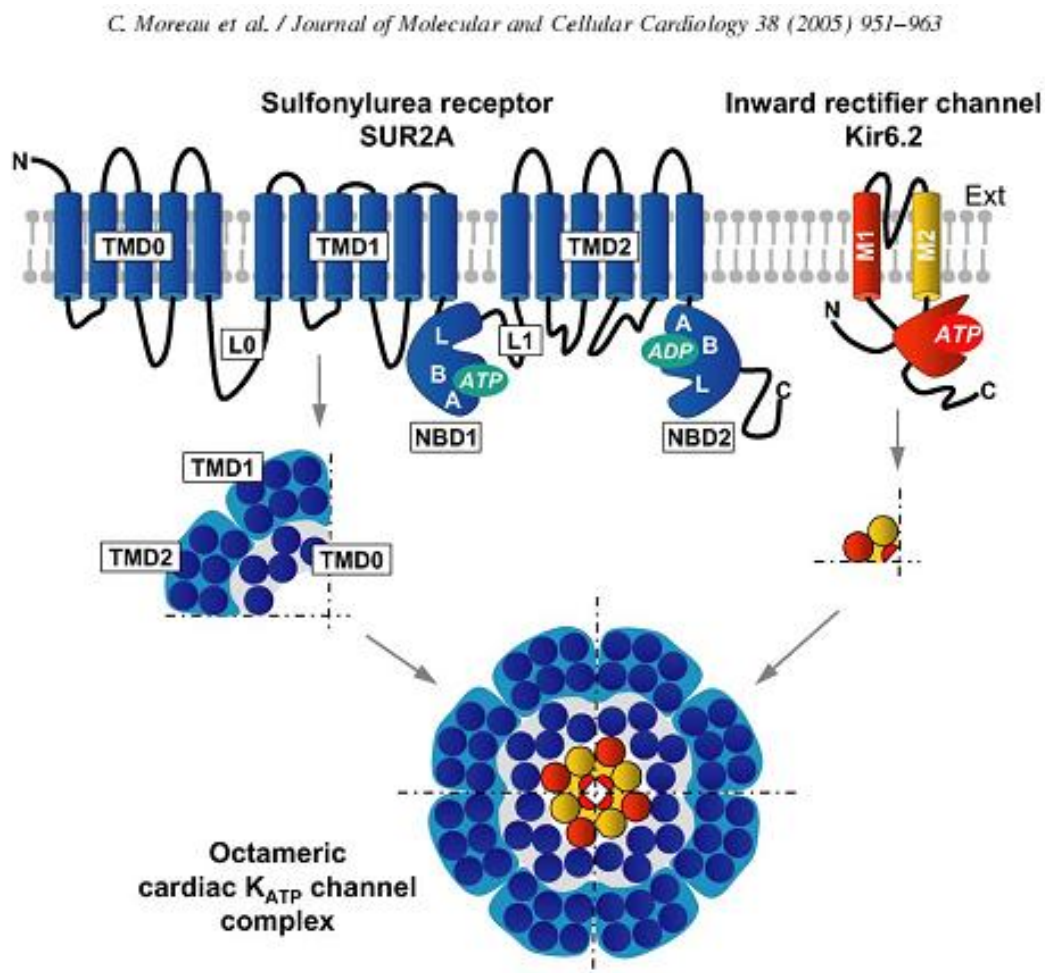


Рис. 1.3 Мембранна топологія і структурна організація K_{ATP} -каналу кардіоміоцита по Moreau C. et al [378]. Основними структурними компонентами K_{ATP} -каналу кардіоміоцита є Kir6.2 субодиниця (390 амінокислот) і SUR2A регуляторний рецептор (1549 амінокислот).

Kir6.x субодиниця (~ 40 kDa) є білком, який відноситься до калієвих каналів внутрішнього випрямлення та переважно визначає провідні властивості K_{ATP} -каналу [271, 378, 403]. Проте АТФ-зв'язуюча ділянка, що інгібує канал, розташована саме на тетраметричному комплексі, що утворюється з чотирьох Kir6.x субодиниць (див. рис. 1.3, Kir6.2 виділено червоним) [185].

Кожна Kir6.x субодиниця складається з двох трансмембранних окремих доменів: M1 і M2. Водночас NH₂- і COOH-кінці субодиниць розташовані в цитоплазмі клітини та утворюють ділянку, що відповідає за зв'язування молекул АТФ. Вважається, що у приєднанні однієї молекули АТФ приймають участь два Kir6.x білка [210, 219, 395]. Зокрема, коли K185 і R201 ділянки С-закінчення однієї Kir6.x субодиниці і R50 в N-закінченні іншої прямо взаємодіють з γ - і β -фосфатами АТФ відповідно, аденінове кільце молекули АТФ взаємодіє з E179 та R301 ділянками другої субодиниці Kir6.x [104]. Також цей комплекс може посилювати здатність каналу до відкривання та зменшувати чутливість каналу до АТФ, відповідає за регулювання чутливості каналу фосфоліпідами, зокрема PIP2 [127, 154, 213].

У структурі SUR-рецептору виділяють три окремих ділянки, названих TMD0, TMD1 и TMD2, що складаються з 5, 6 і 6 трансмембранних доменів відповідно (див. рис.1.3, SUR2A). NH₂-кінець SUR білка від плазматичної мембрани розташований зовні. COOH-кінець – в цитоплазмі клітини [110, 395, 519]. SUR-рецептор каналу також містить два гідрофільні АТФ-зв'язуючі домени (нуклеотид-зв'язуючі ділянки): NBD1 і NBD2, кожен з яких утворює по дві ділянки, названі Walker A і Walker B motifs, що сполучені так званою Linker L-сайтом, та утворюють каркас для LSGGQ-зв'язуючої ділянки та два залишки – глутаміновий (Q-петля) і гістаминовий (H-петля).

Структура гомологічних білків показує, що ϵ -амінокислота і азот у складі лізину ланцюжка амінокислот Walker A бере участь в зціпленні γ - і β -фосфатів АТФ, тоді як, аспартат з ділянки Walker B орієнтований на спорідненість до Mg²⁺, за допомогою водню зв'язаного з молекулою води [104, 395]. Вірогідно, що в ділянці з гістидіном відбувається поляризація приєднаної молекули води для гідролізу так само, як у Q-петлі, де за допомогою води відбувається взаємодія з γ -фосфатом АТФ. Водночас ділянки Walker motifs утворюють місця прикріплення та гідролізу нуклеотидів на комплексі SUR рецепторів [104]. Отже, два нуклеотид-зв'язуючі домени NBD1 і NBD2 відповідають – перший за зчеплення АТФ, другий за його гідроліз (рис. 1.4) [185, 395, 403]. З SUR також взаємодіють

Mg^{2+} -нуклеотиди, фармакологічні відкривачі та інгібітори каналу [357, 378, 568].

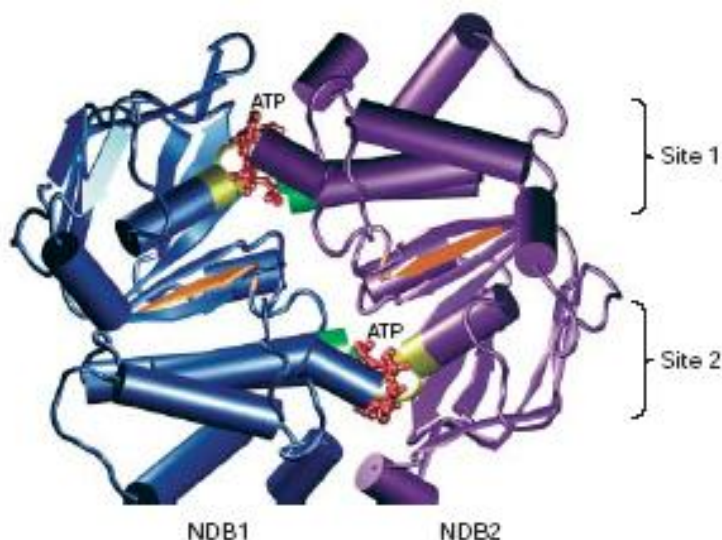


Рис. 1.4 Просторова будова цитоплазматичних нуклеотид-зв'язуючих доменів NBD1 і NBD2, що утворюють дві ділянки для зв'язування АТФ по Campbell J.D. et al. [154].

Два нуклеотид-зв'язуючі домени NBD1 і NBD2 мають значний взаємовплив – зчеплення з нуклеотидом і подальша зміна конформації одного домена приводить до аллостеричної зміни іншого. Зокрема, взаємодія NBD2 з $MgADP$ стабілізує зчеплення АТФ з NBD1 в SUR рецепторі, а зчеплення АТФ з NBD1 стабілізує нуклеотид-зв'язання з NBD2. Відомо, що АТФ і АДФ мають велику спорідненість до NBD1 домену в SUR1, що не залежить від наявності Mg^{2+} і, Водночас обидва нуклеотиди мають Mg^{2+} -залежну низьку спорідненість взаємодії з NBD2 доменом в SUR1 субодиниці. Показано, що іони Mg^{2+} послаблюють чутливість вищезгаданих каналів до рівня $[ATP]_i$. Зокрема, взаємодія $MgADP$ з другим інгібіторним місцем, дещо послаблює АТФ-обумовлене інгібування цього каналу [154]. Взагалі, специфічною рисою нуклеотиддифосфатів (зокрема – УДФ, ЦДФ, ІДФ та, особливо АДФ) є здатність до стимуляції активності вищезазначених каналів, а Mg^{2+} значно посилює цю здатність [271, 394, 513]. Слід зазначити, що за відсутності іонів Mg^{2+} , АДФ не активує, а навпаки, інгібує K_{ATP} -канал в кардіоміоцитах (напівмаксимальне пригнічення активності каналу

відбувається за концентрації АДФ 275 мкмоль/л) і найімовірніше, зв'язується з інгібіторним місцем для АТФ. Водночас у присутності іонів Mg^{2+} , АДФ протистоїть інгібіторним ефектам АТФ і стимулює каналну активність [219]. Ймовірно, що збільшення активності цих каналів молекулами АДФ може відбуватися через антагонізм АТФ-індукованого інгібування каналу. Збільшення активності цих каналів при дії інших нуклеотидфосфатов, можливо, не залежить від АТФ-зв'язуючої інгібіторної ділянки каналу.

Таким чином, K_{ATP} -канал є складним комплексом, що містить 96 переважно трансмембранних доменів і 12 нуклеотид-зв'язуючих регуляторних зон. Інгібування каналу за допомогою АТФ відбувається на комплексі $Kir6.x$, а активація каналу за допомогою $MgATP$ та АДФ на комплексі SUR [185, 210, 395].

Як згадувалось, клітини з високими і швидко мінливими енергетичними вимогами, зокрема кардіоміоцити, мають добре виражені фосфаттранспортні системи, що полегшують енергетичну сигналізацію між місцями вироблення і використання АТФ [119]. Структурні і функціональні взаємодії білків K_{ATP} -каналів з фосфат-транспортними ферментами - АК: $2 \text{ АДФ} \leftrightarrow \text{АТФ} + \text{АМФ}$ та КК: $\text{АДФ} + \text{креатинфосфат} \leftrightarrow \text{АТФ} + \text{креатин}$, забезпечуються широким розподілом цих ферментів в різних частинах клітини (у т.ч. і в мембранах) та безпосереднім контактом з субодинаціями K_{ATP} -каналів. Відомо, що креатинфосфат (субстрат КК) посилює інгібіторну дію АТФ на ці канали.

Аналогічно, АМФ (субстрат АК) антагонізує АТФ-індуковане закриття каналу [104]. АК і КК можуть відігравати істотну роль в регуляції концентрації нуклеотидів в просторі примембранної ділянки, що оточує канал, особливо при невеликих змінах концентрації АТФ і співвідношення АТФ/АДФ, та тонко підстроювати роботу каналу у відповідь на ці зміни [219]. При суттєвих метаболічних змінах, за умови, що локальна регенеративна система підтримує примембранний рівень АТФ (тобто, гліколіз або зовнішнє джерело АТФ), основна частина АК каталізу, ймовірно, може збільшувати перенесення АМФ у напрямі субсарколемального простору і сприяти виробленню примембранного АДФ ($\text{АТФ} + \text{АМФ} \rightarrow 2 \text{ АДФ}$) і, відповідно, сприяти відкриванню K_{ATP} -каналів [104]. Отже,

фосфат-транспортні системи беруть участь в регуляції активності вищезгаданих каналів, що забезпечує необхідний для нормального функціонування клітини взаємозв'язок між активністю каналу та енергетичним станом клітини.

Взаємодія з іншими системами клітини також може бути важливою для енергетичної регуляції K_{ATP} -каналу. Цілком ймовірно, що безпосередній контакт між каналом та актиновими волокнами цитоскелета може представляти додаткову метаболічну систему, таку як лактатдегідрогеназа (ЛДГ), яка подібно АК і КК може мати безпосередній контакт з білками каналу. Каталітична реакція ЛДГ: $НАДН + \text{пируват} \leftrightarrow \text{лактат} + НАД$, також приймає участь у цій регуляції. Відомо, що лактат змінює чутливість K_{ATP} -каналу до АТФ і при дефіциті кисню може накопичуватися в районі ЛДГ-реакції і, таким чином, може змінювати активність вищезазначених каналів кардіоміоцита [104].

Важливими чинниками, що впливають на роботу K_{ATP} -каналів, є також зміна складу мембранних фосфоліпідів, що взаємодіють з Kir6.2 субодиницею каналу, безпосередній вплив на канал G-білків, активація протеїнкіназних систем (PKC, PKG, PKA, фосфатидилінозитол-3 кіназа, протеїнкіназа B, тирозін протеїнкіназа і p38MAP-кіназа), що змінюють активність каналу через його фосфорилування/дефосфорилування, фосфат-транспортних ферментів (АК та КК), та зміна рН – через протонацію каналних білків [104, 219, 518, 549]. Відомо, що зниження цитоплазматичного рН в кардіоміоцитах з рівня 7.2-7.4 до 6.0-6.5 збільшує активність K_{ATP} -каналів (ймовірно, через зменшення чутливості каналу до $[АТФ]_i$). Подальше зниження (менше 6.0) уже пригнічує активність каналу [271, 394, 513]. Щодо протеїнкіназ, то прикладом їх участі в активації цих каналів може бути фосфорилування серину 262 в конексині 43 (відбувається при гіпоксії за участі ϵ PKC, що призводить до його фосфоспецифічної взаємодії з Kir субодиницею міто-КАТФ-каналу кардіоміоцитів клітинної лінії H9C2 та запобігає загибелі клітин (зокрема, через апоптоз), що індукована гіпоксією [450, 452, 549].

Відкриваються вищезгадані канали також за ацидозу, гіперкапнії та зниженні напруження кисню (PO_2) в крові та міжклітинному просторі, що призводить до дилатації судин [291, 295, 393]. Зокрема, при зниженні PO_2 крові

нижче 25-40 в коронарних, нижче 60 в нирковій і нижче 120 мм рт. ст. в каротидних артеріях [428]. Гіпоксія може відкривати ці канали "прямо" (через метаболічні зміни та співвідношення нуклеотидів у клітині) та опосередковано, через дію вазодилаторів ендотеліального походження та продуктів метаболізму в міжклітинному просторі. Прямий вплив гіпоксії на K_{ATP} -канали (незалежний від оточуючого середовища) показаний в експериментах на ізольованих клітинах коронарних [123] і церебральних артерій свині [212, 217]. Водночас аденозин, який при гіпоксії вивільнюється з міокарда, та такі вазодилатори ендотеліального походження як NO, простагліцин та EDHF, також активують ці канали [428], що може свідчити про опосередковану дію гіпоксії.

Отже, K_{ATP} -канал є центральним метаболічним сенсором клітини щодо її енергозабезпечення [396, 403, 530]. Зменшення $[ATP]$ і нижче за мілімолярні рівні спричиняє їх швидке відкривання. Водночас при підвищенні його вмісту канал закривається. При цьому, його чутливість може змінюватись, залежно від оточення каналних білків нуклеотидфосфатами, ліпідами, іонами магнію, від активності кіназних систем та іншого.

1.3 Протекторні властивості K_{ATP} -каналів

K_{ATP} -канали є високочутливими до рівнів $[ATP]$ і молекулярними структурами, що регулюють потенціал-залежні мембранні функції [104, 403, 513, 514]. Зважаючи на їх виняткову роль в синхронизації метаболізму та трансмембранної електричної активності слід зазначити, що їх дисфункція підвищує сприйнятливості людей до цілого ряду небезпечних для життя захворювань [117, 403, 442, 534]. Зокрема, ці канали підтримують електричну стабільність нейронів (особливо за ішемічного та епілептичного інсульту), де вони не лише зменшують електричну збудливість, пригнічуючи постсинаптичну деполяризацію, що була індукована звільненням збуджуючих нейротрансмітерів, зокрема, глутамату та аспартату (які виділяються за гіпоксії при деполяризації нейронів), а також завдяки зменшенню цитозольного кальцію, при цьому

попереджують ушкодження нейронів [140, 324, 554]. Крім того, відкривання вищезазначених калієвих каналів інгібує індукований окисним стресом апоптоз нейронів [514] та захищає нейрони і судинні ендотеліальні клітини від β -амілоїдної токсичності, яка є головною нейропатологічною рисою хвороби Альцгеймера і старіння [161, 270]. Відомо, що порушення реполяризації мембран нейронів сприяє генерації судом та розладів руху [138]. Водночас відкривання K_{ATP} -каналів призводить до гіперполяризації мембрани нейронів та зменшення їх збудливості, що попереджує епілептичні розлади [108] та напади [231, 554]. Фармакологічні відкривачі цих каналів також мають знеболюючий ефект [155, 422], що опосередковується звільненням ендорфінів, енкефалінів та активацією опіоїдних рецепторів [155], можуть посилювати знеболюючу дію опіоїдів [313, 422] та запобігти синдрому відміни морфіну [447]. Отже, їх можна використовувати як анальгетики в лікуванні хронічних больових синдромів і наркозалежних пацієнтів, та як замінники наркотичних знеболювальних при хронічному больовому синдромі.

Значну роль ці канали відіграють в попередженні порушень гормонального гомеостазу [144, 157, 261, 432, 479] та нормалізації роботи скелетних м'язів при гіпокаліємічному паралічі [207, 412, 520]. В пульмонології фармакологічні активатори цих каналів можна застосовувати для зняття бронхоспазмів при бронхіальній астмі та хронічному обструктивному бронхіті. Їх позитивний ефект є не лише в зменшенні гіперреактивності ГМК бронхів, а також у зниженні активності нейронів та зменшенні утворення слизу секреторними клітинами у відповідь на алергени та подразники [150, 223, 435, 541, 555]. В урології – при гіперактивності сечовидільної системи (зокрема, детрузора сечового міхура) [110, 216, 435, 452, 556], та при еректильній дисфункції нейрогенної та судинної етіології [131, 159, 267, 522, 529]. За відкривання вищезазначених каналів відбувається гіперполяризація мембран ГМК та, як наслідок, їх розслаблення та заповнення печеристих тіл [131, 159, 267, 522, 529]. В дерматології їх застосовують для відновлення нормального росту волосся, завдяки посиленню кровопостачання волосяних фолікул [152, 198, 352, 368, 401]. Проте особливу

роль вони мають в серцево-судинній системі [295].

1.3.1 K_{ATF} канали, як один із головних ендогенних механізмів кардіопротекції при ішемії міокарда.

Зниження вмісту АТФ є характерним для таких загальнопатологічних станів як ішемія і гіпоксія міокарда – найбільш поширених причин гострих порушень діяльності серця. При цьому, K_{ATF} -канал, що миттєво реагує на це зниження, є одним із головних ендогенних механізмів захисту від ішемії [393, 396, 530]. Зокрема, такі ключові природні механізми кардіопротекції як ішемічне прекондиціювання (ІПК) та посткондиціювання опосередковуються активністю цих каналів [255, 565, 572]. Їх відкривання спричиняє кардіопротекцію при ішемічно-реперфузійних пошкодженнях міокарда [242, 273, 308, 567], стенокардії та ішемічній хворобі серця [280, 361, 478, 486, 503]. Зменшуючи тривалість потенціалу дії (ТПД) кардіоміоцитів вони попереджують та знімають атріальні та шлуночкові ішемічні та реперфузійні порушення ритму, аритмії, що пов'язані з порушеннями процесів реполяризації, деполяризації та автоматії [183, 248, 380, 388, 456], синдромом з вродженою чи набутою пролонгацією QT, синдромом Бругада [473, 474, 524, 566], фібриляції та тахікардію, катехоламін-індуковані аритмії шлуночків [382, 388, 524, 543]. Активація вищезгаданих каналів при метаболічних порушеннях міокарда стабілізує мембранний потенціал спокою та зменшує передачу змінених, патологічних сигналів між клітинами і ектопічну пейсмейкерну активність [219], зменшує зону інфаркту міокарда при ішемії-реперфузії [183, 246, 375, 461, 510], попереджує серцеву недостатність [284, 502, 557, 563], зокрема, ремодилування шлуночків серця та їх гіпертрофію [336, 337, 434, 462]. Завдяки пригніченню метаболізму, активація цих каналів може значно покращувати збереження донорського серця в умовах охолодження та глобальної ішемії при трансплантації в клініці [274, 320, 325, 486]. Значний кардіопротекторний ефект їх відкривання може мати при коронарних синдромах [188, 367, 480, 503], церебральному вазоспазмі [257, 450, 528], легеневій [168, 169, 195, 400] та артеріальній [226, 477] гіпертензії, патології периферичних судин

[112, 182]. K_{ATP} -канали також задіяні в реактивній гіперемії [275, 470, 576]. Така потужна протекторна дія активаторів K_{ATP} -каналів є наслідком не тільки коронаролітичного ефекту, але і зниження пост- і переднавантаження на серце за рахунок дії на резистивні і венозні судини [323, 455].

Про важливість K_{ATP} -каналів в компенсації патологічних зрушень в енергетичному забезпеченні і нормалізації роботи серця може свідчити їх кількість на плазматичних мембранах кардіоміоцита та інших клітин. А саме, якщо, щільність K_{ATP} -каналів на плазматичній мембрані ГМК сечоводу і сечового міхура становить приблизно 160 і 425 каналів відповідно або 1 канал на 39 мкм^2 клітини сечоводу [143, 512], то на плазматичній мембрані ГМК артерій їх розташовано близько 300-700 (приблизно 0,1-1 канал на 10 мкм^2 артерії). Зокрема, близько 330 на ГМК легеневої, близько 350-700 на коронарних артерій [168, 559, 568]. На ГМК комірної вени від 200 до 600 каналів [129, 397]. Водночас на плазматичній мембрані кардіоміоцитів на порядок більше – близько 3000 каналів на кардіоміоцит або 1-10 каналів на 10 мкм^2 кардіоміоцита [271, 392]. Така значна щільність K_{ATP} -каналів в кардіоміоцитах в порівнянні з іншими клітинами свідчить про їх важливість для міокарда.

Виділяють K_{ATP} -канали сарколемальних (сарко- K_{ATP}) і мітохондріальних (міто- K_{ATP}) мембран [126, 436, 487, 574], що були відкриті відповідно Noma (1983) і Inoue (1991) [289, 398]. Ступінь антиішемічного захисту міокарда залежить від типу активованих K_{ATP} -каналів: сарколемальної та мітохондріальної мембран кардіоміоцитів, гладеньком'язових та ендотеліальних клітин [294, 371, 395, 544]. Слід зауважити, що протекторні механізми, індуковані активацією вищезгаданих каналів сарколемальної та мітохондріальної мембран доповнюють один одного і, в деякій мірі взаємозв'язані – через ряд внутрішньоклітинних месенджерів, зокрема, протейнінази та активні форми кисню (АФК) активація одних каналів може призводити до відкривання інших [463, 265, 132, 252, 411].

Вище зазначені канали довго вважалися кінцевими ефекторами таких ендогенних протекторних механізмів як ІПК та посткондиціонування (рис. 1.5) [20, 45, 207, 533]. Зокрема, їх активація необхідна для реалізації пізньої фази ІПК,

індукованою короткочасними періодами ішемії [133, 509], агоністами аденозинового рецептора A1 [128] і опіоїдного δ_1 -рецептора [227], активними формами кисню (АФК) [411, 577], монофосфоріл ліпідом А [207, 366], молекулами CO [170], оксидом азоту [547] та іншими факторами.



Рис. 1.5 Молекулярні механізми феномена ішемічного прекондиціювання по Петрищеву Н.Н. [45].

За сучасними уявленнями K_{ATP} -канали можуть бути не лише кінцевими ефекторами в процесах прекондиціонування, але також проміжною ланкою (медіатором) і, навіть, тригером кардіопротекції [411, 546]. Відкриття міто- K_{ATP} -каналів приводить до збільшення кількості АТФ при ішемії [548, 549] та підвищення рівня антиоксидантів через 24 години після ішемії [577]. Включення цих каналів у пізню фазу прекондиціонування може відбуватися через протеїнкіназу С (РКС) [255, 548, 549], оксид азоту [255], АФК [255, 507] та інші системи. Зокрема, за фармакологічного відкриття вище зазначених каналів відбувається активація ряду ізоформ РКС [548], які можуть виступати важливим регулятором синтезу ефекторних білків, що відповідають за активацію пізньої фази ІПК. Відомо, що NO також є важливим в розвитку другої фази ІПК [142, 302], а оскільки відкриття цих каналів збільшує його генерацію [335], їх можна вважати медіаторами чи тригерами затриманого прекондиціонування. Ще однією

сигнальною ланкою між K_{ATP} -каналами і відтермінованим ППК можуть бути АФК, оскільки як вже згадувалося, відкривання вищезазначених каналів мітохондріального типу приводить до незначного збільшення їх вмісту [111, 327], що може посилювати активність p38MAPK, $ERK_{1/2}$ та інших кіназ [407], сприяючи, таким чином, реалізації механізмів затриманого ППК [333]. Отже, K_{ATP} -канали можуть бути як ефекторами, так і тригерами та медіаторами в розвитку другої фази ППК.

Слід зауважити, що кардіопротекторний ефект ішемічного посткондиціонування (багаторазової короточасної регіональної оклюзії, який відтворюється відразу ж після тривалої ішемії) також пов'язаний з відкриванням міто- K_{ATP} -каналів [385, 420, 421] та відбувається через зміну активності кіназ (зокрема, $ERK_{1/2}$ (стимуляція якої призводить до зменшення міжклітинного транспорту через конексини 43), протеїнкінази В (PKB/Akt) і глікогенсинтази-кінази ($GSK3\beta$) [385, 420, 502]), посилення генерації NO [565], через білок CGX-1051 [571] та глюкагон-подібний пептид GLP [420].

Суть антиішемічного захисту полягає в тому, що при зниженні внутріклітинного вмісту АТФ відкривання цих каналів сарколемального типу зміщує мембранний потенціал в сторону гіперполяризації, зменшує ТПД кардіоміоцитів, під час якого кальцій надходить в клітину, зокрема через кальцієві канали L-типу, та відповідно, внутрішньоклітинну концентрацію кальцію [295, 395] (рис. 1.6), який є одним із головних вторинних посередників чисельних метаболічних реакцій і активатором багатьох ферментів [487]. Це, по-перше, повинно гальмувати метаболічні процеси в клітині [243, 568] і відповідно, зменшувати її потреби в кисні та призводити до економії енергетичних матеріалів, що дуже важливо за дефіциту кровопостачання серця [395]; по-друге, повинно пригнічувати активацію ферментів, що беруть участь в патогенезі пошкодження міокарда; по-третє, обумовлює дилататорні реакції коронарних судин [188], що зумовлює краще кровопостачання міокарда; в четвертих, попереджує розвиток перенавантаження кардіоміоцита іонами кальцію [124, 395] і повинно запобігати такому не бажаному наслідку цього, як контрактири міофібрил, що приводять до

некротичних пошкоджень міокарда [255, 298, 331, 485].

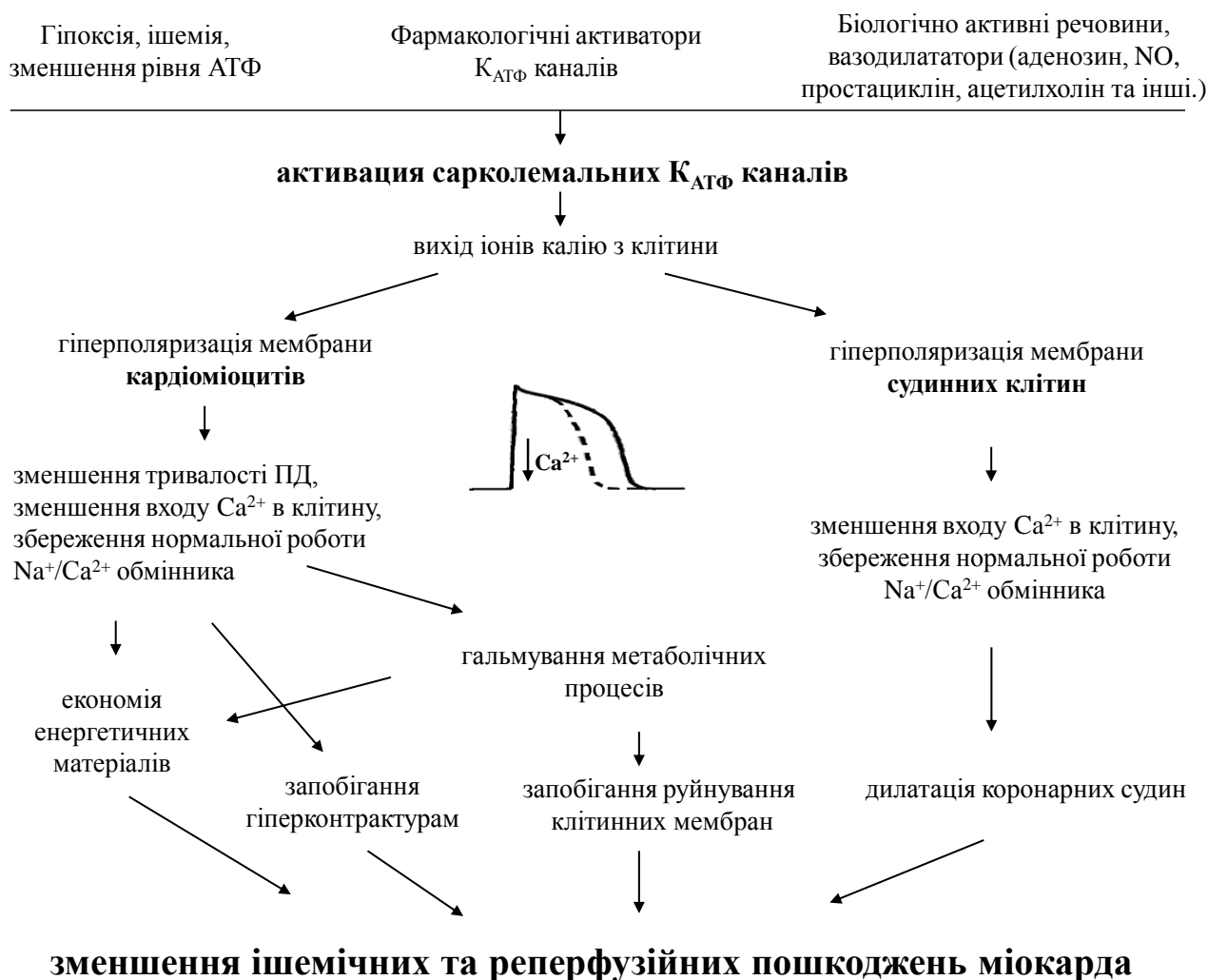


Рис. 1.6 Можливі механізми розвитку кардіопротекції при відкриванні K_{ATP} -каналів плазматичної мембрани

Механізми протекторної дії мітохондріальних каналів при ішемії менше відомі, проте вони також досить ефективні та полягають в зменшенні входу кальцію та його надмірному накопиченню в мітохондрії (рис. 1.7) [23, 277, 487, 548]. А саме, відкривання міто- K_{ATP} -каналів супроводжується входом калію в матрикс, деполяризацією внутрішньої мітохондріальної мембрани (зменшення її потенціалу) [277, 326], інгібуванням потенціалзалежного кальцієвого уніпортеру, попередженням надмірного накопичення кальцію в матриксі мітохондрій [381] та

збільшенням резистентності мітохондрій до нього [277,], що сприяє збереженню функції мітохондрій за ішемії-реперфузії серця. Це пригнічує утворення АФК [399], запобігає відкриванню мітохондріальної транспортної пори високої провідності (МП) [249, 265], апоптозу та некрозу [322, 499, 514, 549, 548], спричиняє помірне набухання мітохондрій, що попереджує розпад АТФ [23, 109, 197], стимулює дихання і зниження потенціалу на НАД-залежних субстратах [23].

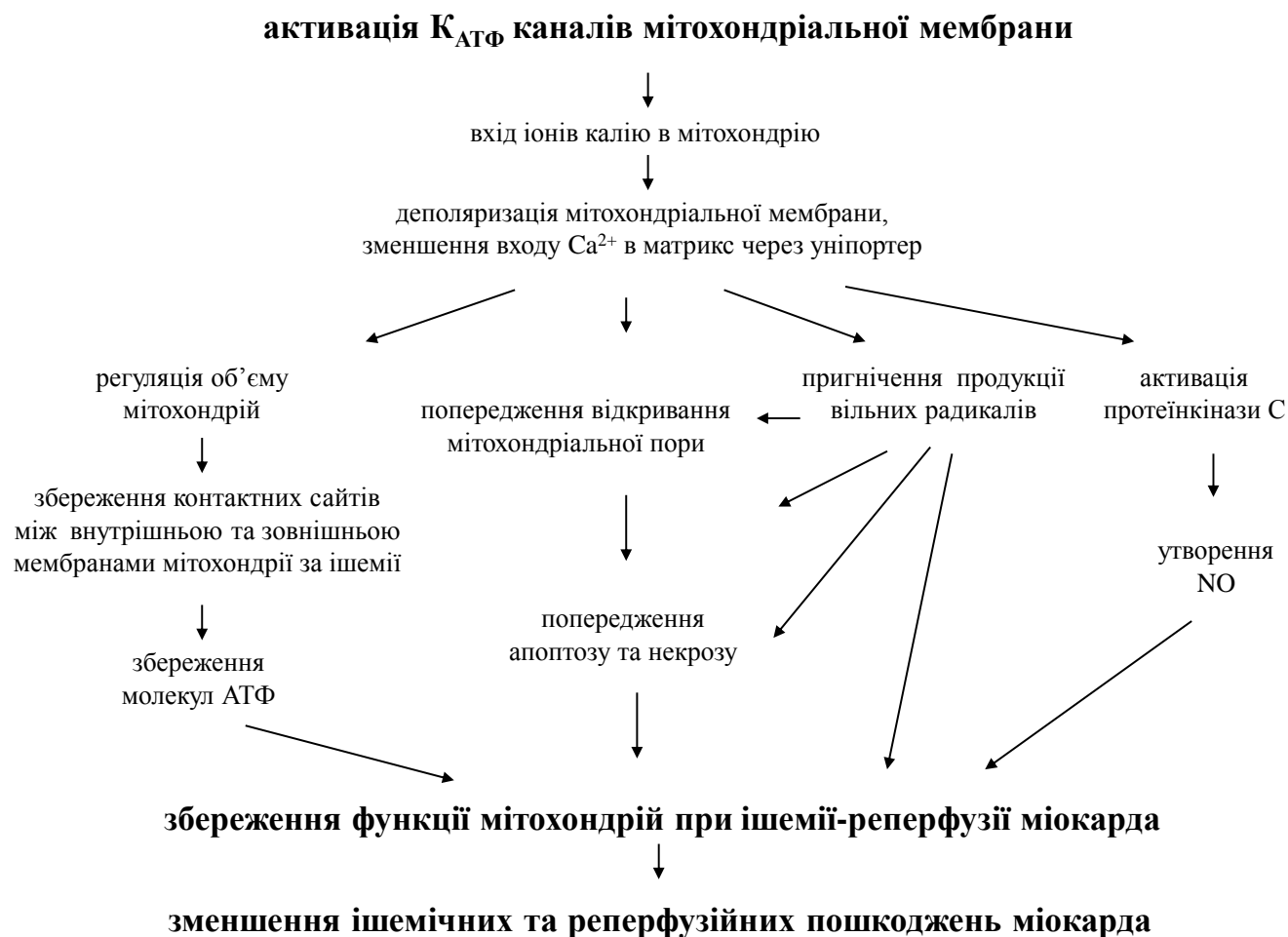


Рис. 1.7 Можливі механізми розвитку кардіопротекції при активуванні K_{ATP} -каналів внутрішньої мембрани мітохондрій

Інгібування цих каналів скасовує вищезгадані кардіопротекторні ефекти [265, 381]. Надмірне збільшення в матриксі мітохондрії Ca^{2+} та вільних радикалів за ішемії та, особливо, під час реперфузії ішемізованого міокарда призводить до підвищення проникності їх мембран і утворення МП. Збільшення цієї проникності

по-перше, призводить до порушення процесів окисного фосфорилування та зменшення синтезу АТФ, по-друге – до виходу з мітохондрій проапоптотичних сполук (зокрема, цитохрому с), які через каскад каспаз запускають апоптоз [249, 250]. Зменшення стрімкої генерації вільних радикалів при ішемії-реперфузії міокарда за відкривання міто- K_{ATP} -каналів, можливо є наслідком зменшення вмісту Ca^{2+} та пригніченні активності ферментів циклу трикарбонових кислот [410, 414]. Вхід в мітохондрію іонів калію при відкриванні міто- K_{ATP} -каналів супроводжується входом неорганічного фосфату і води (що призводить до помірного осмотичного набухання матриксу мітохондрій), змінами процесів дихання та фосфорилування, алкалізацією матриксу мітохондрій [175, 232, 399]. Причиною останньої є збереження загальної електронеутральності транспорту іонів – вхід іонів калію компенсується виходом протонів H^+ , концентрація яких в матриксі мітохондрій зменшується, а рН збільшується. Проте частково цей процес компенсується активацію K^+/H^+ -обмінника [175]. Кардіопротекторна роль помірного набухання ймовірно обумовлена збереженням за ішемії контактних сайтів між зовнішньою та внутрішньою мембранами в оптимальній орієнтації для входу АДФ в матрикс мітохондрії та збереженням взаємодії між транспортними системами [197]. Зокрема, транспорт нуклеотидів в матрикс мітохондрії через розташований на зовнішній мембрані VDAC канал, міжмембранний простір (Mi-CK) та розташовані на внутрішній мембрані АДФ/АТФ-транслокази. Водночас змінюється енергетичне перенесення фосфату та пригнічується використання АТФ [130].

Одним із потужних захистних антиішемічних механізмів при відкриванні K_{ATP} -каналів є збереження та накопичення енергоресурсів (зокрема, АТФ) в кардіоміоцитах, то вірогідно в цьому процесі беруть участь канали як сарколемальної, так і мітохондріальної мембран [202, 243, 514]. Проте якщо механізми, що призводять до зменшення витрат високоенергетичних фосфатів за відкривання перших не викликають сумнівів, то питання про механізми, що запускаються за активації других є досить дискусійними. Відомо, що активація міто- K_{ATP} -каналів пригнічує гідроліз АТФ та підвищує його вміст при

ішемії [548, 549] (що пов'язують зі сповільненням утилізації та забезпеченням високого вмісту високоенергетичних субстратів і, відповідно, збереженням роботи іонних насосів та репаративних процесів [22, 383]). Зокрема, ішемічне та фармакологічне (пінацидін та діазоксид) прекодиціювання збільшувало вміст АТФ та креатин фосфату [184, 202, 363]. Подібне підвищення було отримане при дії флокаліну в експериментах з гострим порушенням мозкового кровообігу [11]. За одних досліджень не виявлено змін у синтезі АТФ за реперфузії [130], тоді як інші вказують, що ІПК забезпечує швидкий ресинтез АТФ та креатин фосфату під час відновлення кровотоку [22, 121, 240, 263]. Отже, більш ймовірно, що адаптовані до ішемії мітохондрії стають стійкими до неї, що дозволяє їм швидко відновлювати вміст макроергів в клітині під час реперфузії [22, 179, 180]. Виділені з прекодиційованого міокарда мітохондрії, на відміну від органел з інтактного серця, є резистентними до патогенної дії кальцію, що був добавлений в середовище інкубації мітохондрій в експерименті [22, 179]. Як відомо, потужне навантаження останніх кальцієм за ішемії-реперфузії є одним із ключових механізмів пошкодження кардіоміоцитів [465, 466], тому поява резистентності мітохондрій до кальцієвого навантаження за активації K_{ATP} -каналів може відігравати важливу роль в механізмах адаптації міокарда до ішемії [22]. Водночас при умовах, що є близькими до фізіологічних діазоксид та флокалін посилювали мітохондріальне дихання, проте зменшували спряження окисного фосфорилування та синтез молекул АТФ [205]. В інших експериментах, пінацидін, навпаки, підвищував їх вміст [339], або як при дії пінациділу, так і діазоксиду суттєвих змін ні на вміст креатин фосфату, ні на вміст АТФ не відбувалось [301]. Інший активатор K_{ATP} -каналів – бімакалім зменшував, а хронічна гіпоксія посилювала синтез АТФ у мітохондріях серця кроликів [205]. Можливо, що в разі зменшення синтезу АТФ, відкриття міто- K_{ATP} -каналів може стимулювати транспорт електронів у дихальному ланцюзі і збільшувати окиснення жирних кислот [277]. Таким чином, досі залишається до кінця не вивченим роль змін у синтезі АТФ за кардіопротекторної дії ІПК та фармакологічного відкриття K_{ATP} -каналів. Ймовірно, що активація цих каналів

підвищує стійкість мітохондрій до ішемії, забезпечує збереження їх функції та швидко відновлює рівень АТФ під час реперфузії [22, 205, 224, 229].

Таким чином, зменшення АТФ за ішемії призводить до відкриття K_{ATP} -каналів та розвитку двох основних протекторних та компенсаторних механізмів, що реалізуються судинною системою та безпосередньо міокардом (зміни у цитоплазмі кардіоміоцитів та міжклітинному просторі). Перша, через гіперполяризацію мембрани ГМК коронарних судин призводить до їх розширення, посиленого кровотоку та забезпечення міокарда енергетичними ресурсами і киснем. Друга, через економний режим роботи та пригнічення метаболічних процесів призводить до заощадження клітинних енергоресурсів. Енергодефіцит міокарда призводить до відкриття двох типів вище зазначених каналів – плазматичної та мітохондріальної мембран. Внаслідок гіперполяризації першої (та зменшення ТПД) та деполяризації другої відбувається зменшення входу іонів кальцію як в цитоплазму клітини, так і в матрикс мітохондрій. Що по-перше, попереджує патологічне за ішемії-реперфузії навантаження як цитоплазми клітин, так і матриксу мітохондрій кальцієм, по-друге – гальмує метаболічні процеси (пригнічується активність Ca^{2+} -залежних ферментів). Наслідком чого є зниження активності міокарда – який переходить в економний режим роботи з меншими витратами АТФ, зменшення пошкоджень міокарда та збереження функції серця (в т.ч. структури та функції мітохондрій, як основних енергогенеруючих одиниць кардіоміоцитів) при ішемії та, особливо, під час реперфузії ішемізованого серця.

1.3.2. Молекулярно-генетичні експерименти, як беззаперечні докази кардіопротекторної функції комплексу SUR-рецепторів та Kir6.x.

Важливу роль K_{ATP} -каналів в нормальному забезпеченні функції серцево-судинної системи та підтриманні метаболічного гомеостазу підтверджують молекулярно-генетичні дослідження [395, 403]. Структурні білки цих каналів заковані певними генами: зокрема, гени ABCC8 та ABCC9 кодують SUR1 та

SUR2 (A і B), гени KCNJ8 та KCNJ11 – субодиниці Kir6.1 та Kir6.2 відповідно [103, 222, 286, 395]. Субодиниця міто- K_{ATP} -каналу, що відповідає за провідні властивості – ROMK2 кодується геном KCNJ1 [222]. Слід зауважити, що гени, які кодують Kir6.2 і SUR1 субодиниці каналу розташовані поруч на 11p15.1 хромосомі людини [166, 288, 517]. Гени, що кодують Kir6.1 і SUR2 – також поруч на 12 хромосомі, в частинах 12p11.23 та 12p12.1 [166, 287, 288, 516], що вірогідно уможливорює їх спільне регулювання [395].

Основний кардіопротекторний механізм відкривання сарко- K_{ATP} -каналів – зменшення ТПД та зменшення входу кальцію в кардіоміоцит було чітко показано в експериментах на мишах з нокаутом гена, що кодує Kir6.2 субодиницю. При ішемії чи дії фармакологічних активаторів цих каналів скорочення ТПД було відсутнє, що значно поглиблювало ушкодження міокарда надлишком Ca^{2+} в кардіоміоцитах, спричиняло їх гіперконтрактуру та некроз [219, 504, 579]. Такі тварини в стресових умовах втрачали захисний ефект активації K_{ATP} -каналів. І навпаки, підвищена експресія SUR2A робить серце більш стійким до ішемії за рахунок, що найменше, збільшення на сарколемальній мембрані кількості K_{ATP} -каналів [191]. Порівняно зі звичайними мишами кардіоміоцити трансгенних (більше K_{ATP} каналів) мали значне покращення протекторної відповіді на гіпоксію (з укороченням ТПД) та значно меншим розміром інфаркту міокарда у відповідь на ішемію-реперфузію серця [191]. Підвищення стресостійкості серця за гіпоксії та дії естрогену якраз пов'язують із збільшення експресії сарко- K_{ATP} -каналів [177, 437, 438]. Більше того, незначне зниження (на 0,9 %) вмісту кисню в повітрі протягом доби (що еквівалентно напрузі кисню на висоті 350 метрів над рівнем моря) значно підвищувало експресію SUR2A-рецепторів, незважаючи на те, що це зниження кисню в повітрі не змінює вміст O_2 та CO_2 в крові, та вміст АТФ, лактату і NAD / NADH / NAD(+) у міокарді. При цьому, серця таких мишей ставали значно стійкішими до ішемії-реперфузії, в порівнянні з контрольними тваринами [376]. Вважається, що одним із захисних механізмів ІПК, якраз є збільшення щільності цих каналів на мембрані [151, 191].

У нокаutowаних по K_{ATP} -каналам тварин фізичне навантаження [563] чи

стимуляція адренорецепторів міокарда [311] за тривалого підвищення судинного тиску різного генезу (блокада нітрооксидсинтази [279], ниркова сольова (мінералокортикоїди) гіпертензія [311], звуження аорти лігатурою [563]) відбувалося ремоделювання міокарда – гіпертрофія з наступним фіброзом. Розвивалася серцева недостатність, з усіма патологічними ознаками (збільшення маси лівого шлуночка, зменшення ударного об'єму, серцевого викиду, часу релаксації, систолічного тиску в лівому шлуночку та, навпаки, значного збільшення кінцево-діастолічного тиску) та тварини швидко помирали [282, 311, 563]. Відкривання K_{ATP} -каналів фармакологічними активаторами (нікоранділ та пінацидیل) запобігає гіпертрофії та ремоделюванню міокарда шлуночків в після інфарктний період, зокрема через інгібування p70S6 кінази, яка є тригером синтезу білків, що викликають гіпертрофічні зміни [278, 279, 336, 337].

Відомо, що миші, позбавлені гена, що кодує Kir6.1 чи SUR2 мають високий рівень раптової смерті, що пов'язана зі спонтанним збільшенням ST-сегмента на електрокардіограмі та атріовентрикулярною блокадою [369]. У тварин з Kir6.1-нокаутом активатор K_{ATP} -каналів пінацидیل не спричиняє трансмембранні K^+ струми в судинних ГМК та не розширює їх. Водночас введення вазоконстриктора метилергометрину таким нокаutowаним мишам (на відміну від контрольних тварин) підвищувало в кардіограмі сегмент ST та спричиняло їх загибель. Отже, тваринам з нокаут по Kir6.1 [369] чи SUR2 [164] властиво надмірне звуження коронарних артерій, що є подібним до стенокардії Принцметала у людей [471, 480]. Тобто, Kir6.1 та SUR2 субодиниці K_{ATP} каналу мають велике значення в коронарній циркуляції. Порушення їх функції має подібні наслідки (гіпертонія, коронароспазм, раптова смерть, стенокардія [164, 369]), що вірогідно пов'язано з близьким розташуванням генів, що їх кодують (в одному локусі хромосоми) та можливо зчепленими властивостями [192, 208, 262]. Збільшення коронарного перфузійного тиску і зниження коронарного кровотоку при заглушенні цих генів може бути наслідком порушення функції K_{ATP} -каналів у ендотеліальних клітинах коронарних судин. Адже комбінація Kir6.1/SUR2B, разом з варіантом Kir6.2/SUR2B, відповідає каналам ендотелію [297, 365, 569].

Звичайні та нокаутовані по Kir6.2 миші з нирковою сольовою гіпертензією, незважаючи на еквівалентні умови навантаження, мають різну обумовлену фізичним навантаженням відповідь [308, 310-312]. На відміну від звичайних мишей, генетичний нокаут по K_{ATP} каналам за гіпертензії призводив до видимого погіршення їх стану при фізичному навантаженні та призводив до їх загибелі, починаючи з 7 дня тренування. Нокаут по K_{ATP} -каналам на половину зменшував виживання таких тварин [311]. Отже, відсутність Kir6.2 субодиниць K_{ATP} -каналів погіршує толерантність до фізичного навантаження і загальне життєзабезпечення.

У цих же експериментах, у гіпертензивних нокаутованих по K_{ATP} каналам тварин, на відміну від звичайних мишей, загибелі передувало прогресивне зниження серцевої активності з розвитком затримки атріовентрикулярної провідності і брадикардії. Навіть у нокаутованих тварин, що вижили, серця мали істотне погіршення скоротливої функції, зменшення аортальної швидкості потоку та значне збільшення лівого шлуночка за рахунок ремоделювання, а саме гіпертрофії та фіброзу міокарда. Розвивалася асоційована з набряком легень систолічна дисфункція шлуночків [311]. Водночас стимуляція роботи серця в нокаутованих гіпертензивних тварин добутамином призводила до блискавичної серцевої дисфункції (зі швидким підвищенням кінцево-діастолічного тиску та зниженням тиску, що розвивається) та загибелі тварин [311]. Отже, гіпертонічні нокаутовані по K_{ATP} каналам тварини є схильними до серцевої недостатності, що прискорює їх загибель.

Слід зауважити, що навіть у нормотензивних нокаутованих по K_{ATP} каналам мишей при фізичному навантаженні плаванням спостерігалися розлади скорочувальної функції серця з істотним зменшенням фракції укорочення лівого шлуночка і серцевого викиду [310, 308]. Повторні тренування викликали значну загибель тварин з Kir6.2-нокаутом під час фізичного навантаження або зразу після нього. Морфологічні дослідження цих тварин виявили дифузний некроз міокарда. Навіть у тварин, що вижили, були характерні ознаки серцевої недостатності зі збільшеним лівим шлуночком за рахунок патологічної гіпертрофії та серцевою дисфункцією [310, 308]. Дослідження міокарда нокаутованих мишей, що

навантажували плаванням, показало збільшену експресію міозит-підвищуючого фактора 2 (MEF2, критичного транскрипційного фактору), що активується кальцій-залежною кальмодулін-кіназою та транспортується в ядро, де запускає ембріональне перепрограмування генів і патологічну гіпертрофію серця [309, 310, 308]. Що може свідчити про надзвичайну важливість збереження функції вищезазначених каналів для нормальної життєдіяльності.

Взагалі, ремоделювання міокарда за серцевої недостатності супроводжується енергетичною, механічною та електричною дисфункцією міокарда. Проте погіршення функції K_{ATP} каналів, які є стримуючим механізмом цих дисфункцій (зокрема, при кардіоміопатіях), призводить до нерегульованого збільшення внутрішньоклітинного рівня кальцію, прогресування патологічних змін, хронічної серцевої недостатності та загибелі тварин [273, 310, 308, 312, 562].

1.3.3. Зміна функціональної активності K_{ATP} -каналів за алельних поліморфізмів.

Проте до зміни функції каналу та розвитку патології може привести навіть заміна поодиноких нуклеотидів – алельний поліморфізм. Зокрема, патогенний алельний поліморфізм K_{ATP} -каналів є причиною: розладу секреції інсуліну, а саме, вродженого гіперінсулінізму (гіперсекреція інсуліну незважаючи на низький рівень глюкози) I типу по гена ABCC8 (SUR1, OMIM #256450) та II типу по гена KCNJ11 (Kir6.2, OMIM #601820); діабету новонароджених (по генам ABCC8 (SUR1, OMIM #606176) та KCNJ11 (Kir6.2, OMIM #601410); DEND-синдрому, що включає затримку розвитку, епілепсію та вроджений діабет по гена KCNJ11(Kir6.2) знайдено 10 поліморфізмів (R50p, R50G, Q52R, G53D, V59G, C166F, C166Y, I167L, I296L і G334D), по гена ABCC8 (SUR1) один - F132L, за яких відбувається інгібування секреції інсуліну [116, 75, 196, 236, 237, 264, 344, 419, 423, 532, 534]; набутого інсулін-незалежного діабету (E23K поліморфізм (rs5219 гена KCNJ11 [342, 403, 445]) та розвитком міопатій. Зокрема, у зменшенні витривалості [105, 167] скелетного м'яза у людей з діагнозом м'язової слабкості

(відомого як гіпокаліємічний періодичний параліч [303, 520]. $K_{\text{АТФ}}$ -каналопатії залучені в захворювання з механічними та електричними вадами серця, що включають дилатаційну кардіоміопатію з тахікардією та аритмією шлуночків, та адренергічну фібриляцію передсердь. Що є наслідком поліморфізму rs608569 в екзоні 38 ABCC9 (OMIM #608569), який кодує С-кінцевий домен SUR2A, та може зменшувати реакційну активність каналної АТФ-ази, з порушенням метаболічного сигналювання [137]. S422L поліморфізм гена KCNJ8 (Kir6.1) спричиняє синдроми J-хвилі, Брудага та ранньої реполяризації, що супроводжується фібриляцією передсердь та шлуночків, та миготливою аритмією [186, 248, 364, 388]. Заміна треоніна в положенні 1547 на ізолейцин (T1547I) поліморфізму c.4640C>T в екзоні 38 гена ABCC9, що кодує С-кінцевий домен каналу субодиниці SUR2A, не змінює інгібуючу дію АТФ на провідність каналу, проте пригнічує його реакцію на вміст АДФ, що може унеможливити пригнічення адренерго-індукованої фібриляції передсердь, що походять з вени Маршалла, в якій є багато симпатичних волокон і яка є визнаним джерелом фібриляцій такого типу [402, 403]. Порушення функції каналу за поліморфізму V346I гена KCNJ8 (Kir6.1) спричиняє синдром раптової смерті немовлят [388, 515]. Поліморфізм E23K з заміщенням глютаміну на лізин (c.67G>A, rs5219 гена KCNJ11 [445]) у Kir6.2 є фактором ризику патологічного ремоделювання серця та розвитку серцевої недостатності за гіпертензії та фізичного навантаження [186, 364, 403, 441]. Подібно до мишей, що були нокаутовані по Kir6.2 субодиниці (в яких гіпертензія та фізичне навантаження спричиняли суттєве зменшення скоротливої функції серця, збільшення лівого шлуночка, ремоделювання (гіпертрофію та фіброз) серця та серцеву недостатність [311]), у людей хворих на гіпертонію з КК-варіантом E23K-поліморфізму значною мірою збільшувались розмір, об'єм і маса лівого шлуночка як за систоли, так і за діастоли [440]. Водночас достовірних відхилень між генотипами (ЕЕ, ЕК та КК) людей та структурою, функцією (розміру і маси лівого шлуночка, фракції викиду) та електричною нестабільністю (аритмії передсердь і шлуночків) серця і обміну речовин (рівень глюкози натще, цукровий діабет, індекс маси тіла), без врахування гіпертонії, не було [440]. Тобто

збільшення розміру лівого шлуночка за довготривалого підвищення судинного тиску співвідноситься з E23K-поліморфізмом гена KCNJ11(кодує Kir6.2) та розвитком серцевої недостатності, що також свідчить про важливість збереження нормальної функції вищезазначених каналів. Досліджуючи цей поліморфізм у хворих на дилатаційну кардіоміопатію H.L. Xi et al (2013) виявили, що порівняно з хворими без поліморфізму, у людей за поліморфізму спостерігається значне збільшення кінцево-діастолічного розміру лівого шлуночка і лівого передсердя, та підвищена частота виникнення аритмій шлуночків [557].

За молекулярного моделювання тетрамерної структури Kir6.2 пори показано, що залишок E23 знаходиться на внутрішньоклітинній спіралі та потенційно може привести до значної структурної перебудови і порушення взаємодії з сусідніми Kir6.2 білками [441, 445]. Отже, може порушуватись чутливість каналу (активація чи інгібування) до різних лігандів. Зокрема, аденіннуклеотидів, довголанцюгових ацил-КоА ефірів та протонів [342, 441, 445]. Вірогідно, за цього поліморфізму може збільшуватися відкритість каналу, через зменшену чутливість до інгібуючої дії АТФ [464].

Залишається мало вивченим вплив алельних поліморфізмів генів, що кодують вищезазначені канали на судинний тонус. Проте відомо, що ці поліморфізми можуть змінювати функцію каналу, зокрема, чутливість до нуклеотидфосфатів [192, 193]. Виявлено, що гомозиготи по мінорному типу (23K/337V) поліморфізмів E23K, I337V (AA генотип E23K поліморфізму та GG генотип I337V поліморфізму) гена, що кодує Kir6.2 білки каналу мають меншу чутливість до АТФ (при його фізіологічних концентраціях) і більшу чутливість ацил-КоА, який знаходиться в Kir6.2 субодиниці [464, 444]. Водночас за гомозигот по мажорному типу (23E/337I, GG генотип для E23K поліморфізму та AA генотип I337V поліморфізму) посилюється чутливість до фармакологічних активаторів K_{ATP} каналів, зокрема іптакаліму. При цьому він значним чином може понижувати систолічний артеріальний тиск [192, 193].

Водночас зміна функціональної активності K_{ATP} -каналів ендотеліальних клітин коронарних судин (Kir6.2/SUR2B) за алельного поліморфізму V734I в 17

екзоні гена ABCC9 (SUR2), який кодує ділянку з 13 амінокислот у першому нуклеотид-зв'язуючому домені (NBD1), призводить до спазмів коронарних судин та, як наслідок, можливого гострого інфаркту міокарда [481]. Показано, що даний поліморфізм у людей збільшує вірогідність його розвитку у віці до 60 років у 6,4 рази [372]. Відомо, що ця ділянка домену NBD1 бере участь у відповіді каналу до нуклеотидів [165]. Взагалі, цей поліморфізм має місце як в SUR2A так і SUR2B рецепторах [372, 480]. Проте, Smith K.J. et al (2013) виявили, що він не змінює реакцію каналів Kir6.2/SUR2A (сарколемальні канали кардіоміоцитів, переважно шлуночків) і Kir6.1/SUR2B (сарколемальні канали ГМК коронарних судин) до нуклеотидфосфатів [379, 480, 569]. Водночас у K_{ATP} -каналів ендотеліальних клітин коронарних судин (Kir6.2/SUR2B) знижується чутливість до інгібування MgATФ та до активації MgНДФ (MgАДФ, MgГДФ і MgУДФ) [480]. Тобто, поліморфізм Kir6.2/SUR2B-V734I може бути основною причиною порушення регуляції каналів нуклеотидами через зміну чутливості до MgATФ на NBD1 домені SUR2B рецептору. Одним із наслідків цього в ендотеліальних клітинах вірогідно може бути підвищення генерації ендотеліну-1 [442]. Підтвердженням цьому може бути збільшення вмісту останнього якраз у тварин з нокаутом Kir6.1/SUR2B [395], що сприяло спазмам коронарних судин [340, 448]. Отже, алельний поліморфізм V734I гена ABCC9 (SUR2) є першим відомим поліморфізмом людини в іонному каналі, який може залучатися в розвиток інфаркту міокарда.

Таким чином, визначення алельних поліморфізмів, супутніх порушень функції K_{ATP} -каналів та, як наслідок, розвитку патологічних змін, дослідження нокаutowаних по цим каналам тварин свідчать про важливість вищезгаданих каналів, особливо при гіпоксії, фізичному та гуморальному навантаженні.

1.4 Специфічна активність фармакологічних активаторів K_{ATP} -каналів та сайти їх взаємодії з SUR- рецептором каналу

Фармакологічні відкривачі K_{ATP} -каналів ділять на декілька груп, які

відрізняються молекулярною будовою та кристалічною структурою. Найбільш дослідженими є ціаногуанідини (самий відомий представник – пінацидیل), бензопірани (левкромакалім та кромакалім), тіоформаміди (апрікалім), піримідини (міноксидил), нікотинаміди (нікорандил) та бензотіадіазини (діазоксид) [295] (рис. 1.8).

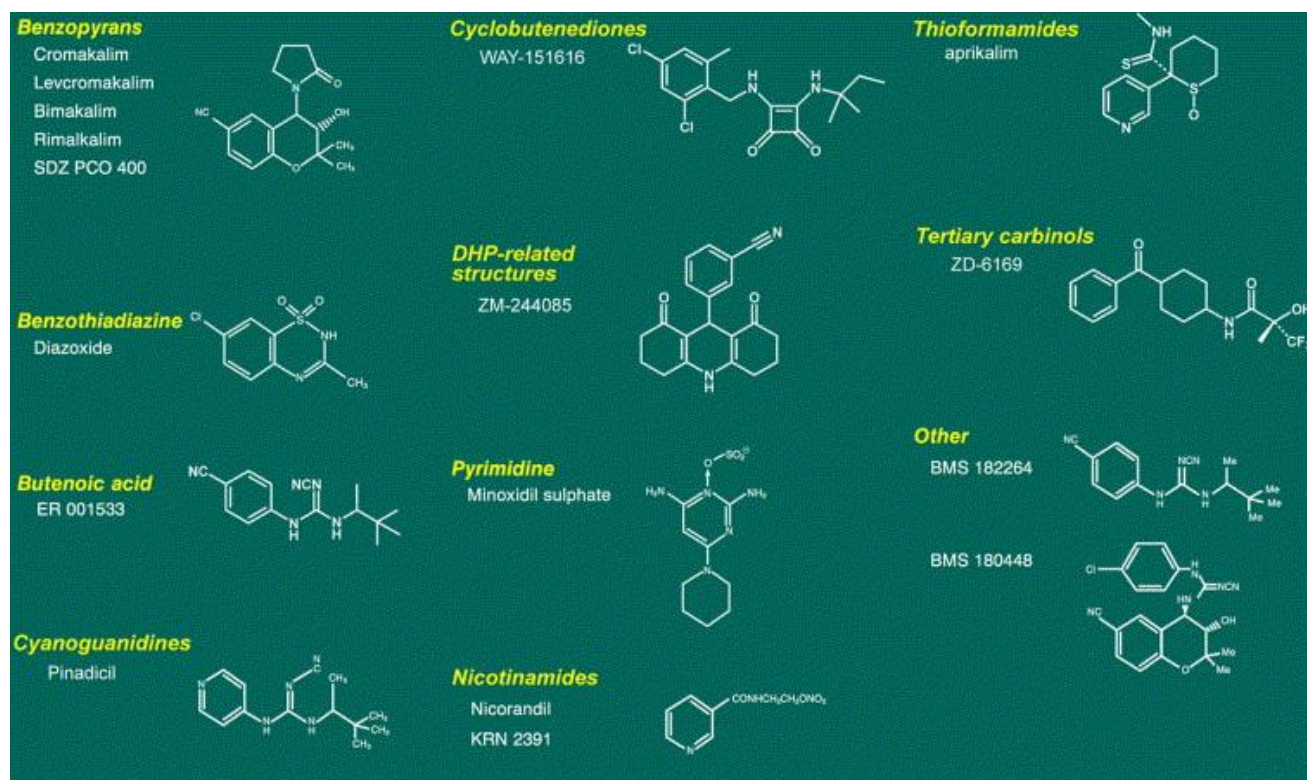


Рис. 1.8 Класифікація фармакологічних відкривачів K_{ATP}-каналів базується на їх хімічній структурі по A. Jahangir & A. Terzic (2005) [295]

Відомості про молекулярний склад каналних субодиниць дали змогу визначити місця взаємодії з каналними білками практично для всіх основних активаторів та інгібіторів K_{ATP}-каналів, в тому числі фармакологічних. Сучасні уявлення про місця взаємодії нуклеотидфосфатів, фармакологічних активаторів та інгібіторів з вищезгаданим каналом представлено на рис. 1.9 [568].

Фармакологічні активатори різних груп родини K_{ATP}-каналів діють на певні сайти окремих субодиниць, зокрема SUR1, SUR2A та SUR2B, від чого залежить їх специфічна активність. Водночас структура SUR-рецепторів різних підтипів має

відмінності (рис. 1.10). Особливо, рецептору SUR1 (що переважно відповідає K_{ATP} -каналам нейрональних клітин, β -клітин підшлункової залози та каналам мітохондріальної мембрани), порівняно з м'язовими ізоформами: SUR2A та SUR2B. Проте структура останніх співпадає на 99% (рис. 1.10) [378].

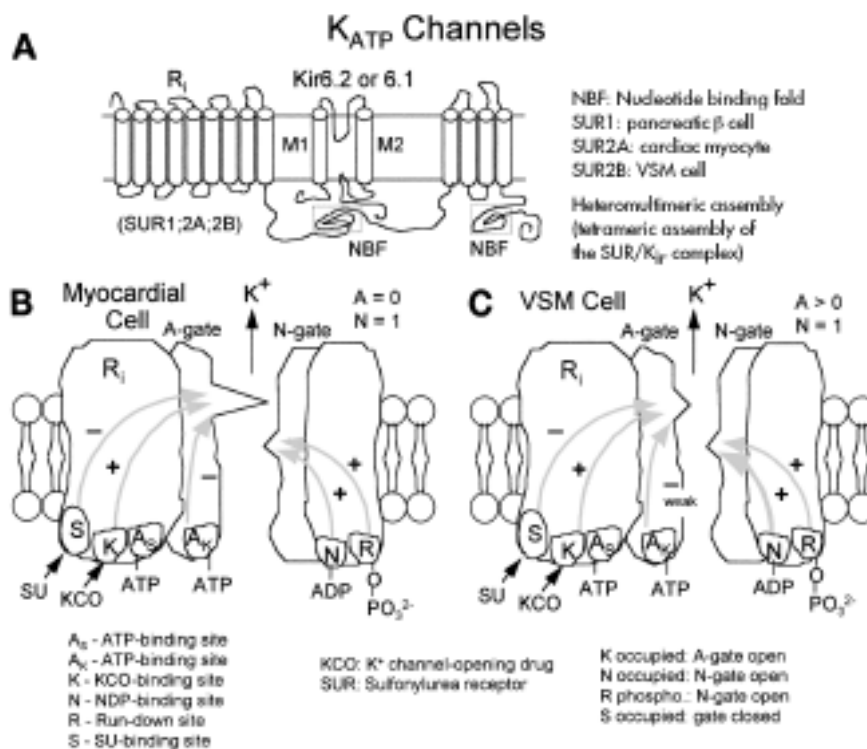


Рис. 1.9 Сайти взаємодії нуклеотидфосфатів, фармакологічних активаторів та інгібіторів з K_{ATP} -каналом по Yokoshiki H., 1998 [568]. А. Структура K_{ATP} - каналу. В. Модель каналу в кардіоміоцитах. С. Модель каналу в ГМК судинних клітин. Де, КСО – фармакологічні відкривачі K_{ATP} -каналів

На рис. 1.11 представлено сайти взаємодії з K_{ATP} -каналом фармакологічних активаторів – діазоксиду, пінацидилу, P1075 та левкромаркаліму. Як видно, три останніх зв'язуються з 16-17 ділянкою TMD та 13-14 ділянкою CL SUR2-рецепторів. Водночас діазоксид взаємодіє з сегментом TMD 6-11 та доменом NBD1 SUR1-рецепторів не залежно від присутності АДФ, та з NBD2 доменом за присутності АДФ [357].

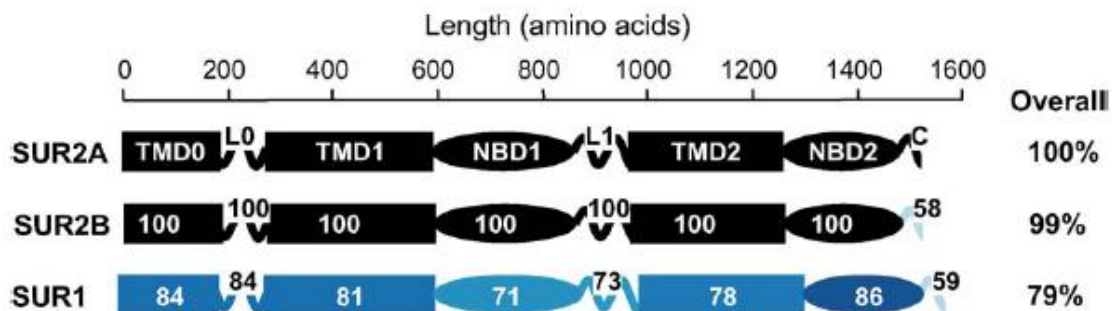


Рис. 1.10 Подібність різних SUR-рецепторів (у відсотках) по Moreau et al. [357]

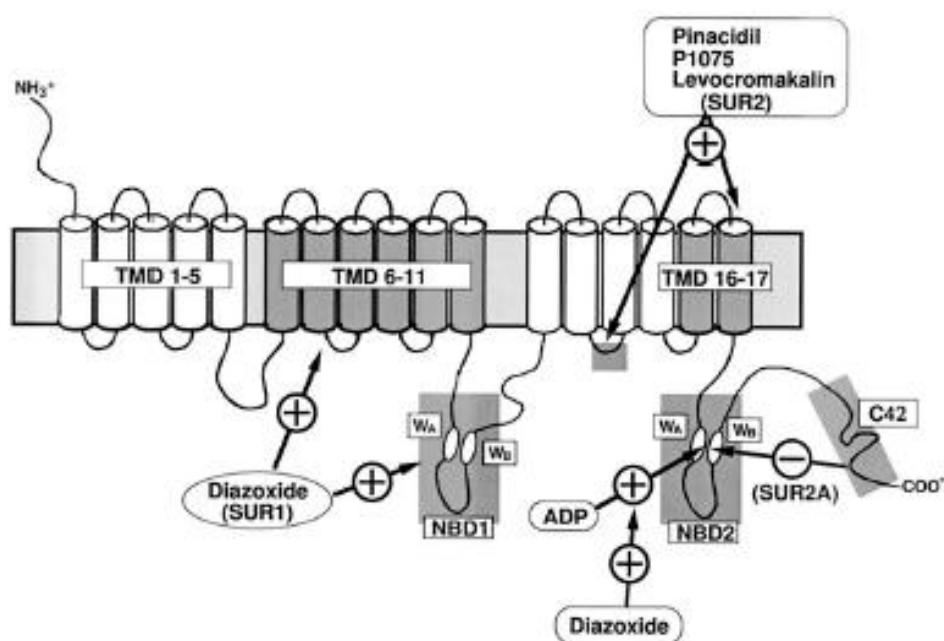


Рис. 1.11 Сайти взаємодії з K_{ATP}-каналом фармакологічних активаторів: діазоксиду, пінацидилу, P1075 та левкромакаліму по T. Matsuoka et al. [357]

Згодом, аналогічні сайти з'єднання фармакологічних активаторів з K_{ATP}-каналом були отримані також С. Moreau et al. [378] (рис. 1.12). Було підтверджено, що діазоксид взаємодіє лише з рецептором типу SUR1, тоді як більшість активаторів вищезгаданих каналів переважно з'єднується з SUR2-рецепторами [378]. Відповідно до сайту взаємодії фармакологічних відкривачів каналу з SUR-рецептором сульфонілсечовини та типу цього рецептору – змінюється спорідненість активаторів до певного підтипу K_{ATP}-каналу та їх

специфічна активність [334, 568] (рис. 1.13). Зокрема, K_{ATP} -канали, що містять ізоформу SUR1 (підшлункової залози), можуть активуватися лише активаторами, що по своїй структурі відносяться до бензотіадизинів – це діазоксид і його аналоги: NNC 55-9216, Nn414 і NNC 55-0118 [378]. Діазоксид практично не змінює активність K_{ATP} -каналів кардіоміоцитів, гладеньких м'язів судин та скелетних м'язів. З іншого боку, два таких відомих активатора K_{ATP} -каналів як пінацидیل і кромакалім практично не відкривають калієві канали в панкреатичних β -клітинах і, Водночас дуже сильно активують канали в кардіоміocyтах і ГМК судин, канали яких складаються з SUR2A і SUR2B рецепторів відповідно [428]. Дійсно, K_{ATP} -канали дуже чутливі як до діазоксиду, так і до пінацидїлу та кромакаліму, проте два останніх в основному зменшують периферичний судинний опір, кров'яний тиск і ТПД кардіоміоцитів, маючи при цьому мінімальну дію на панкреатичні β -клітини [378, 568] (див. рис. 1.13).

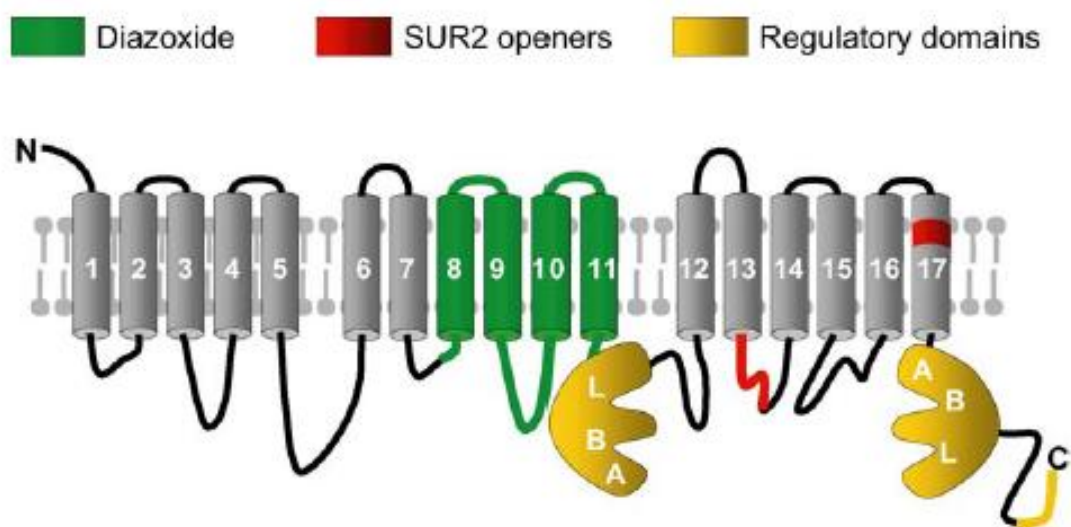


Рис. 1.12 Місця взаємодії з K_{ATP} -каналом фармакологічних активаторів: діазоксид діє лише на SUR1 субодиницю каналу, інші активатори взаємодіють переважно з SUR2 рецепторами та, в деякій мірі, з SUR1 (по С. Moreau et al., 2005) [378]

Слід зауважити, що більшість фармакологічних активаторів K_{ATP} -каналів, зокрема пінацидїл, флокалін, кромакалім і левкромакалім в рівній мірі можуть активувати канали як сарколемальної, так і мітохондріальної мембран.

Таким чином, специфічна активність фармакологічних активаторів вищезгаданих каналів залежить від сайту зв'язування з SUR-рецептором, типу SUR-рецептора та типу K_{ATP} -каналів, що залежить від комбінації SUR та $K_{ir6.x}$ чи ROMK2 субодиниць.

А.

Table 4. K_{ATP} channels: complex of K_{ir} channels and SURs

	γ , pS	ATP	SU	KCO	Ref.
$K_{ir6.2}$ + SUR1 (Pancreatic type)	68 or 76	Inhib (10–28 μ M)	Inhib (G, T) (T: 4.5 μ M)	Stim (D, P) No effect (C)	4, 54, 55, 65, 114, 129
$K_{ir6.2}$ + SUR2A (Cardiac type)	79	Inhib (\sim 100 μ M)	Inhib (G)	Stim (P, C) No effect (D)	66
$K_{ir6.1}$ + SUR2B (VSM type)	33	Bell-shaped relation*	Inhib (G)	Stim (P, N)	159
$K_{ir6.2}$ + SUR2B	80	Inhib (20–300 μ M)	Inhib (G, T)	Stim (D, P)	68
$K_{ir6.2}\Delta C26$	69	Inhib (106 μ M)	No effect (T)	No effect (D)	153
$K_{ir6.2}\Delta C26$ + SUR1†	73	Inhib (13 μ M)	Inhib (T)	Stim (D)	153

Values in parentheses indicate concentrations of IC_{50} for ATP or tolbutamide. T, tolbutamide; N, nicorandil. * In presence of pinacidil, $K_{ir6.1}$ /SUR2B channel was stimulated dose dependently by ATP (0.1–100 μ M), but higher doses (1–3 mM) of ATP inhibited the channel, making a bell-shaped dose-response relation. † Coexpression of SUR1 and $K_{ir6.2}\Delta C26$ substantially reduced basal whole cell K^+ currents compared with that of $K_{ir6.2}\Delta C26$ alone.

Позначено: інгібітори K_{ATP} -каналів: T – тольбутамід, G – глібенкламід; фармакологічні активатори K_{ATP} -каналів (KCO): D – діазоксид, P – пінацидил, N – нікорандил, C – кромакалім.

Б.

	Diazoxide	Pinacidil	Cromakalim	Nicorandil
Pancreatic β -cells	✓✓✓	✗	✗	✗
Cardiac cells	✗	✓✓	✓	✓
Vascular smooth muscle cells	✓✓	✓✓✓	✓✓✓	✓✓✓

Рис. 1.13 Спорідненість підтипів фармакологічних відкривачів до різних підтипів K_{ATP} -каналів (SUR-рецепторів) по Н. Yokoshiki, 1998 (А) [568] та Kim Lawson, 2000 (Б) [334].

1.5. Фармакологічні відкривачі K_{ATP} -каналів в клініці та розроблення нових оригінальних активаторів SUR-рецепторів калієвих каналів

У світовій терапевтичній практиці використовується лише декілька фармакологічних активаторів K_{ATP} -каналів. А саме, Diazoxide (Hyperstat[®], Proglycem[®]) – периферичний вазодилататор – застосовується в клініці при артеріальній та легеневій гіпертензії, гіпертензивних кризах, гіпогліцемії, гіперактивності сечового міхура [5, 172, 295]; Minoxidil (Loniten[®], Rogaine[®]) – периферичний вазодилататор – використовується при артеріальній гіпертензії (особливо при важких формах, резистивних до комбінованої терапії іншими гіпотензивними засобами), для відновлення росту волосся при облісінні по чоловічому типу у чоловіків та жінок, та при імпотенції [5, 295, 477]; Nicorandil (SG-75[®], Adancor[®], Dancor[®], Ikorel[®], Sigmart[®]) – використовується при стенокардії, аритміях, хронічній серцевій недостатності та артеріальній гіпертензії [5, 280, 295, 564]; Pinacidil (Pindac[®]) – при артеріальній гіпертензії [226, 295].

Разом з цим, використання відомих активаторів K_{ATP} -каналів в клініці може викликати ускладнення, що пов'язані з порушеннями ритму серця та пригніченням продукції інсуліну [136], що обмежує їх використання в терапевтичних цілях. Все це стимулює розробку нових активаторів цих мембранних каналів, з більш специфічним механізмом дії.

Співробітниками Інституту органічної хімії НАН України (під керівництвом проф. Л.М. Ягупольського) було створено, а зусиллями співробітників Інституту фізіології ім. О.О.Богомольця НАН України (к.б.н. Р.Б.Струтинський, академік НАН України О.О. Мойбенко) протестовано ряд нових фтормісних активаторів K_{ATP} -каналів [28, 29, 35, 102, 620], серед яких було відібрано чотири (флокалін, тіофлокалін, ДіазоФм та ДіазоФп), з метою проведення більш глибокого дослідження їх специфічної активності – що частково представлено в цій роботі. Оптимізацію технології та моделювання промислового процесу виробництва субстанції засобу флокалін у багатомодовій мікрохвильовій установці проводили

разом зі співробітниками НТК «Інститут монокристалів» НАН України (проф. В.А. Чебанов, к.х.н. М.Ю. Горобець) [92, 560]. Слід зауважити, що за хімічними та фармакологічними властивостями фторвмісні аналоги можуть мати ряд переваг. Введення в формулу атому фтору досить часто призводить до зменшення токсичності та збільшення стабільності лікарського засобу, біологічна активність при цьому не змінюється [73, 561]. Крім того, фторвуглецевий зв'язок (C-F) більш міцний, ніж водневовуглецевий (C-H), що збільшує противоокиснювальну та термічну стійкість молекули, зменшує її метаболізм в організмі, і відповідно, збільшує тривалість дії. Водночас у фторвмісних препаратів суттєво вища ліпофільність ніж у їх водневих аналогів, що підвищує їх біодоступність [73, 561].

Сумісними зусиллями співробітників Інституту фізіології ім. О.О.Богомольця НАН України (Р.Б. Струтинський та О.П. Максимюк) та НВП «Укроргсинтез», м. Київ (О.М. Бойко та М.О. Платонов) розроблений та запатентований метод створення нових активаторів SUR-рецепторів K_{ATP} -каналів [44, 96]. Суть методу в тому, що в ньому застосовують пошук за просторовою фармакофорною моделлю, який полягає у визначенні важливих пунктів взаємодій ліганд-рецептор за типом та їх просторовим розташуванням (тобто визначення просторової фармакофорної моделі), та пошук у базі даних структур органічних сполук, що відповідають такій фармакофорній моделі [44, 496]. Першим етапом роботи є віртуальний скринінг бази даних хімічних молекул з урахуванням особливостей обраних мішеней на основі *in silico* дизайну. Для чого для визначення та фільтрації хімічних сполук ми використали метод *k* найближчих сусідів (*k nearest neighbor*). У варіанті 1NN кожна ознака відноситься до визначеного класу в залежності від інформації про його найближчого сусіда. У варіанті *k*NN кожна ознака відноситься до переважного класу найближчих сусідів, де *k* –параметр методу. В основі методу *k*NN лежить той факт, що відповідно до гіпотези компактності ми очікуємо, що тестова ознака *d* буде мати таку ж мітку, як і ознаки в локальній області, що оточує ознаку *d*. У якості первинного джерела низькомолекулярних сполук була використана колекція низькомолекулярних сполук виробника Enamine Ltd [163] загальною кількістю близько 1,8 млн. З

колекції були виключені сполуки, що містять реакційно активні, токсичні, метаболічно нестабільні та інші небажані фрагменти [44, 96].

За допомогою вищезазначеного методу було розроблено дві інноваційні бібліотеки (413 сполук на циклосульфамідиновому ядрі та 709 сполук на ортопіримідинсульфамідиновому ядрі) нових потенційних відкривачів K_{ATP} -каналів клітинних мембран. Експериментально показано, що принаймні десять нових оригінальних сполук проявляють властивості фармакологічних активаторів цих каналів. Сім сполук відкривають канали як саркоплазматичної, так і мітохондріальної мембран, а саме Z851154982, Z56762024, Z1269122570, Z31153162, Z45679561, Z756371174 та Z649723638. Водночас сполука Z734043408 є потужним активатором вищезгаданих каналів лише сарколемальної мембрани. Сполуки Z31197374 та Z666664306 проявляють спорідненість лише до міто- K_{ATP} -каналів [42-44, 96, 496].

В результаті попередніх досліджень специфічної активності ряду нових вітчизняних фторвмісних активаторів калієвих каналів, розроблених співробітниками Інституту органічної хімії НАН України під керівництвом проф. Л.М. Ягупольського було встановлено, що одним із найбільш перспективних щодо створення лікарського засобу є флокалін - N-(4-дифторометоксифеніл)-N'-пінаколіл-N''-ціаногуанідин [34, 538]. Одною із його вагомих переваг є значно менша токсичність, ніж у відомих активаторів K_{ATP} -каналів – середньо-летальна доза (LD_{50}) для білих щурів становить 2150 проти 600 мг/кг у найблищого закордонного аналогу пінациділу [28, 29, 34, 73]. Дещо меншою порівняно з останнім виявилася і токсичність тіофлокаліну $LD_{50} = 1600$ мг/кг [34]. В рамках сумісних доклінічних досліджень флокаліну співробітниками Інституту фізіології ім. О.О.Богомольця НАН України (к.б.н. Р.Б.Струтинський, академік НАН України О.О. Мойбенко) та співробітників ДУ «Інститут фармакології та токсикології» НАМН України (проф., д.м.н. М.А. Мохорт, д.м.н. Н.І. Серединська) останніми було досліджено нешкідливість флокаліну, а саме, гостру та хронічну токсичність, та місцево-подразнюючу дію як субстанції, так і різних серій лікарських зразків (таблетки, серії: 150405, 210803 і 251007) [28, 29, 34, 73].

Встановлено, що при одноразовому введенні в шлунок білим щурам різних статей та віку середньо-летальні дози флокаліну були практично ідентичними і коливалися в межах 1700-2700 мг/кг. Показано, що за класифікацією речовин за класом небезпеки всі досліджені зразки флокаліну відносяться до III класу, який характеризується як клас малотоксичних сполук [28, 29, 34, 73]. Разом з тим, показники середньо-летальних доз лікарської форми препарату для тварин різних вікових категорій дещо відрізняються між собою. Найбільш чутливими до дії флокаліну заводського виготовлення є так звані геронтологічні щури, вік яких перевищував 12 місяців: LD_{50} , становила 1710-1730 мг/кг відповідно для самиць та самців. Менш чутливими до флокаліну, незалежно від статі, були статевонезрілі тварини ($LD_{50} = 2240$ мг/кг) і найменше чутливими – дорослі молоді щури: LD_{50} для самиць та самців відповідно складала 2580 та 2720 мг/кг. Отримані результати свідчать, що показники гострої токсичності для субстанції, таблеток лабораторного та промислового випусків, ступінь місцево-подразнюючої дії та вплив на функціонування органів і систем тварин в умовах тривалого введення суттєво не відрізнялися [28, 29, 73].

Вивчення впливу флокаліну на діяльність органів і систем в умовах тривалого введення проводили на двох видах лабораторних тварин – білих щурах та собаках. Тварини, які впродовж 3 місяців отримували в шлунок флокалін в дозах 3,0 (білі щури) та 15,0 (білі щури і собаки) мг/кг тіла тварини, залишалися на звичайному режимі утримання та раціону в віварії. В дослід було взято 45 щурів та 5 собак. Спостереження за тваринами проводили на початку дослід (вихідні дані) та через 1 та 3 місяці, коли фіксували зовнішній вигляд тварин, масу тіла, поведінкові реакції, здатність приймати їжу та воду, основні вегетативні функції. За даними цих спостережень не встановлено зміни поведінкових реакцій у тварин; зовнішній вигляд піддослідних щурів та собак впродовж 3 місяців введення препарату не змінювався, відбувалася фізіологічна надбавка маси тіла, тварини охоче приймали їжу та воду, зберігали нормальну температуру тіла, вегетативні функції не зазнали видимих змін. У піддослідних тварин не спостерігалось нефізіологічних змін досліджуваних показників функціонування

серцево-судинної, нервової, видільної та дихальної систем, морфологічного складу крові та реологічних властивостей останньої, антитоксичної та білок-синтезуючої функцій печінки та функції нирок. Препарат у вигляді таблеток не чинить місцево-подразнюючої дії на слизову оболонку шлунку, про що свідчить відсутність суттєвих змін об'єму шлункового соку та його кислотності, а також відсутність органічних змін слизової шлунку [28, 73].

Таким чином, при тривалому (3 місяці) введенні щурам та собакам флокаліну в дозах, які в 10 та 50 разів перевищують максимальні добові дози для людини він не чинив суттєвої негативної дії на функціонування життєво-важливих органів та систем: виживання тварин відповідало такому для інтактних тварин. Отримані дані дозволяють характеризувати лабораторну та заводську лікарські зразки флокаліну як мало токсичні сполуки [28, 73].

РОЗДІЛ 2

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ

2.1. Використані тварини

В експериментах були використані морські свинки, щури ліній Wistar-Kyoto та SHR (спонтанно гіпертензивні) вагою 0,2-0,3 кг та безпородні собаки різної статі вагою від 16 до 25 кг. Для отримання культури неонатальних кардіоміоцитів – дводобові щури.

Всі експериментальні процедури виконано згідно з Європейською Директивою Ради Громад від 24 листопада 1986 р. (86/609/EEC).

2.2. Отримання та культивування неонатальних кардіоміоцитів щура

Первинну культуру неонатальних кардіоміоцитів отримували з міокарда шлуночків дводенних щурів за допомогою ферментного гідролізу як описано в роботі Reinecke et al [439]. Шлуночки серця щурів механічно подрібнювалися ножицями до отримання шматків розміром 1-2 мм³ та ферментативно розщеплювали у середовищі виділення: колагеназа II типу (95 ОД/мл) та панкреатин (0,6 мг/мл), та були розведені в буфері наступного складу (ммоль/л): HEPES – 20,0; KCL – 5,4; NaCL – 116,4; глюкоза – 5,5; Na₂HPO₄ – 0,4; K₂HPO₄ – 0,4, яке попередньо оксигенували карбогеном та перемішували за допомогою магнітної мішалки. Перетравлення відбувалося у три цикли по 10 хвилин кожний. Після кожного з циклів шматочкам міокарда давали осісти, рідину видаляли, а до міокарда знову додавали середовище виділення, що містив Ca²⁺ в концентрації 0,2 ммоль/л. Після цього концентрацію Ca²⁺ підвищували до 1,5 ммоль/л. Це дозволяло підготувати Ca²⁺-толерантні клітини до перенесення в розчин з його фізіологічною концентрацією. Після третього циклу кардіоміоцити відмивали шляхом центрифугування в буфері при 3000 g. Кількість живих та загиблих

клітин визначалася за допомогою 0,2 % розчину трипанового синього, який не здатен проникати крізь непошкоджену мембрану клітин і відповідно зафарбовує лише загиблі клітини. Для культивування клітини розміщували на скельця, покриті 2%-м розчином желатину, зі щільністю 50000 та 180000 см⁻² для електрофізіологічних досліджень та експериментів з аноксією-реоксигенацією відповідно. Культивування проводили протягом 1-3 днів у живильному середовищі такого складу: середовище Ігла в модифікації Дюльбекко (DMEM), середовище 199 (співвідношення DMEM/199 – 4 : 1), теляча сироватка – 15%, Na₂CO₃ – 4,2 ммоль/л, HEPES – 15 ммоль/л та антибіотики (стрептоміцин – 100 мкг/мл, гентаміцин – 0,05 мг/мл, пеніцилін – 100 ОД/мл) при 37°C у газовому середовищі – 5% CO₂ та 95% атмосферного повітря. Кожні 24 години середовище замінювали на свіже. Життєздатні клітини, що прикріпились до скла, спонтанно скорочувалися через 12 годин після культивування. Аноксію моделювали аерацією клітин протягом 30 хв газовою сумішшю без кисню такого складу: 5% CO₂ та 95% Ar. Реоксигенацію моделювали зміною живильного середовища та культивуванням клітин за вихідних умов протягом 60 хв.

2.3. Культура ембріональних клітин нирок HEK-293

Клітини HEK-293, що стабільно експресують гени Kir6.2 і SUR2A (клітини HEK-293_{6.2/2A}), культивували за стандартним методом в середовищі MEM з додаванням 10% фетальної телячої сироватки («Gibco», США). Щоб не допустити утворення суцільного шару клітин, їх розріджували кожні 3-4 дні та замінювали середовище. Перед електрофізіологічним дослідом середовище для культивування замінювали на стандартний розчин Тіроде.

2.4. Електрофізіологічні експерименти та розчини

Досліди проводили з допомогою методу “петч-клемп” в конфігурації “ціла клітина” при температурі 36° С з використанням підсилювача PC-ONE («Dagan

Corp.», США), аналогово-цифрового перетворювача Digidata 1200A («Axon Instr.», США) та програмного забезпечення pCLAMP-8 («Axon Instr.», США). Для швидкої зміни зовнішньо-клітинних розчинів (за час близько 1 с) та дії речовин в умовах сталої температури використовували багатоканальну, термостабільну мікроперфузійну систему власної розробки. Складні мікропіпетки для реєстрації даних виготовляли за допомогою витяжки P-97 («Sutter Instr. Co.», США) із боросилікатних капілярів із зовнішнім діаметром 1,5 мм («World Precision Instruments», США). Після заповнення внутрішнім розчином піпетки мали опір $1 \div 4$ МОм. Для обробки та аналізу записів і візуалізації результатів використовували програмне забезпечення Matlab («Mathworks Corp.», США) і Origin («OriginLab Corp.», США).

Стандартний зовнішньо-клітинний розчин Тіроде, в якому проводили контрольні виміри та в який додавали досліджувані сполуки, мав наступний склад (ммоль/л): NaCl – 144, KCl – 5.4, CaCl₂ – 1.8, MgCl₂ – 1.2, NaH₂PO₄ – 1, HEPES – 10, глюкоза – 10, pH 7.4. Мікропіпетку для реєстрації заповнювали штучним внутрішньоклітинним розчином такого складу (ммоль/л): KCl – 20, КОН – 105, глюконат калію – 15, NaCl – 15, аспарагінова кислота – 65, MgCl₂ – 1, HEPES – 10, Mg-АТФ – 4, сахароза – 5, pH 7,2 (доводили з допомогою аспарагінової кислоти).

Параметри ПД – амплітуду, початкову швидкість наростання та тривалість на рівні 90% реполяризації обчислювали згідно процедури [535]. При побудові вольт-амперних характеристик струмів, їх амплітуди нормувалися до величини ємності клітинної мембрани, для отримання значень густин струму (нА/пФ).

2.5. Визначення живих, некротичних, апоптотичних клітин за аноксії-реоксигенації неонатальних кардіоміоцитів

Кількість живих, некротичних та апоптотичних клітин оцінювали цитологічно за допомогою забарвлення кардіоміоцитів біс-бензимідом (Hoechst 33342) і йодидом пропідіуму в однаковій концентрації – 8,75 мкмоль/л. Перший з них проникає через непошкоджену мембрану клітини і забарвлює зеленим

ядерний хроматин, що дозволяє відокремити живі (ядра їх мають рівний контур, округлу форму та рівномірне забарвлення) та апоптотичні клітини. Останні мають фрагментовані та пікнотичні ядра. Йодид пропідіум не здатен проникати через непошкоджену плазматичну мембрану та забарвлює ядра клітин з пошкодженою плазмолемою, тобто некротичні. Крім того спостерігалися клітини із цілою плазмолемою та з ядром зеленого кольору, що мали дещо менші порівняно із звичайними клітинами розміри і більшу інтенсивність забарвлення. Це свідчить про конденсацію хроматину та початкову стадію апоптозу в них. Клітини із фрагментованим червоним ядром свідчать про розвиток апоптозу та початок некротичної загибелі.

Флокалін додавали в середовище інкубації в дозі 5 та 20 мкмоль/л за 2 хв до початку аноксії. В якості контролю на дію розчинника в середовище інкубації додавали диметилацетамід у дозах, що відповідали максимальним при введенні флокаліну. Після цього проводили звичайне цитологічне дослідження за допомогою барвників біс-бензимідин (Hoechst 33342) і йодид пропідіум.

2.6. Дослідження на суспензії ізольованих мітохондрій

Мітохондрії виділяли з печінки і серця статевозрілих самців щурів лінії Wistar вагою 220-250 г загальноприйнятим методом диференціального центрифугування [33, 59]. Середовище виділення для мітохондрій печінки містило (в ммоль/л): манітолу – 210, сахарози – 70, ЕГТА – 0,5, Нерес-КОН (pH=7,4) – 30 та 0,1% альбуміну бичої сироватки. Середовище виділення для мітохондрій серця містило (в ммоль/л): манітолу – 210, сахарози – 70, ЕГТА – 2, Нерес-КОН (pH=7,4) – 10 та 1 мг/мл альбуміну. Вміст загального білка мітохондрій визначали за методом Лоурі [350].

2.6.1. Спектрофотометрична реєстрація набухання мітохондрій.

Досліди проведено на щурах лінії Wistar масою 220 - 250 г. Відкривання МП досліджували за допомогою спектрофотометричної реєстрації набухання

мітохондрій, ізольованих із серця щурів. Для цього мітохондрії поміщали в інкубаційне середовище ізотонічного складу (в ммоль/л): KCl – 120, тріс – HCl – 25, KH_2PO_4 – 3; pH 7,4 (кінцевий об'єм – 3 мл) і реєстрували зниження оптичної густини суспензії мітохондрій при $\lambda=520$ нм за 5 хв до і впродовж 10 хв їх набухання за наявності індуктора Ca^{2+} . Для визначення відкриття МП у серці щурів використовували природний індуктор Ca^{2+} у концентрації 10^{-4} моль/л. Зміну рівня набухання органел визначали як різницю у відсотках ($\Delta, \%$) між показником набухання мітохондрій на 15 хв відносно вихідного значення. Концентрація білка в інкубаційному середовищі становила 0,4 мг/мл. Як контроль використовували суспензію мітохондрій в інкубаційному середовищі за відсутності індуктора з подальшою реєстрацією оптичної густини протягом 15 хв. В експериментах *in vivo* одноразове введення щурам флокаліну або тіофлокаліну у дозі 2 мг/кг здійснювали за 30 хв до декапітації тварин.

2.6.2. Полярографічне вимірювання кисню.

Зміни дихання мітохондрій за дії фторвмісних діазоксидів вивчали за допомогою відкритого платинового електроду, що обертається [3, 33]. В якості порівняння використовували хлорсрібний електрод, насичений розчином KCl. На рис. 2.1 наведена типова крива поглинання кисню мітохондріями.

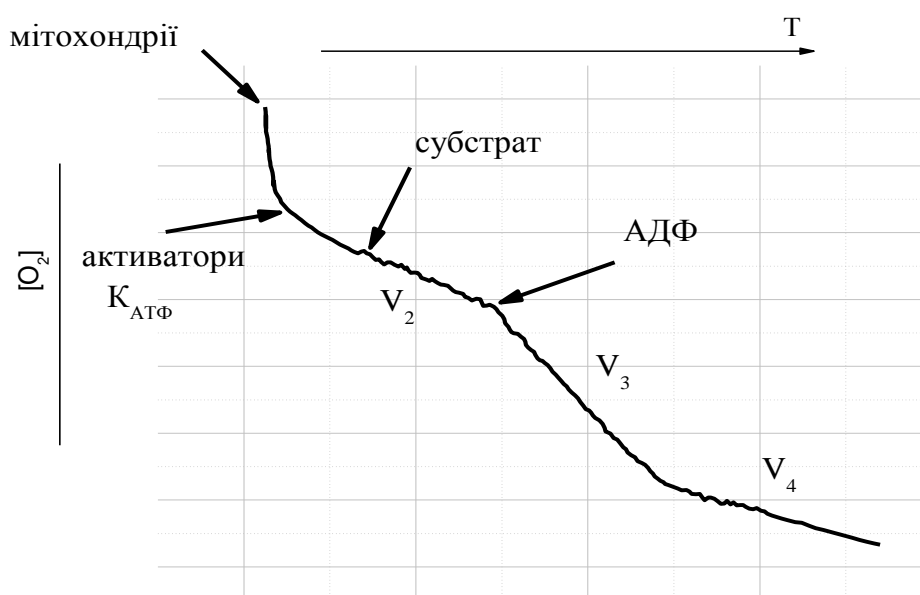


Рис. 2.1 Полярограма записів окисного фосфорилування.

Додавання до суспензії мітохондрій субстрату окиснення приводить до повільного поглинання кисню зі швидкістю V_2 , тоді як внесення АДФ відразу спричиняє активацію дихання (швидкість поглинання кисню в метаболічному стані 3 – V_3 або АДФ-стимульоване поглинання кисню). АДФ фосфорилується, перетворюється в АТФ і дихання знову гальмується – стан V_4 . Поглинання кисню можна знову активувати додаванням АДФ. Швидкість дихання виражали в натомах поглинутого за 1 хв кисню та відносили до 1 мг білка. Отже, V_2 , V_3 та V_4 відповідає швидкості поглинання кисню відповідно в метаболічному стані 2, 3 та 4 за Чансом [160]. Відношення V_3/V_4 називають коефіцієнтом дихального контролю (ДК), величина якого змінюється від 1 (при повній відсутності спряження дихання та фосфорилування) до 8-10 (у випадку повного спряження) [33]. При відомій концентрації АДФ і кількості кисню, використаного в стані 3, розраховується коефіцієнт фосфорилування (АДФ/О), який може бути близько 2 (за сукцинату натрію) або 3 (за α -кетоглутарату натрію). Їх числове значення відповідає коефіцієнту P/O, який характеризує термодинамічну ефективність окиснення різних субстратів. Співвідношення швидкостей V_2 і V_4 характеризує активність АТФ-гідролазних реакцій мітохондрій (коефіцієнт Ларді). ДіазоФм та ДіазоФп (30 мкмоль/л) додавали в середовище інкубації після внесення мітохондрій (2,5 мг білка). В експериментах з мітохондріями печінки використовували середовище інкубації такого складу (ммоль/л): сахароза – 150,0, KH_2PO_4 – 5,0, MgCl_2 – 25,0, KCl – 75,0. Для мітохондрій серця середовище інкубації було таким (ммоль/л): сахароза – 0,3, KCl – 0,01, K_2PO_4 – 0,005, EDTA – 0,001. В дослідах без калію – робили еквімолярну заміну KCl на холін хлорид.

2.6.3. Дослідження впливу нових активаторів SUR-рецепторів на енергетичний та іонний обміни в мітохондріях серця і печінки щурів.

Дихання мітохондрій за дії флокаліну оцінювали за допомогою двокамерного оксиграфа Oxygraph 2K (Oroboros Instruments, Австрія), що дозволяє проводити високоточні вимірювання кисню в невеликій кількості біологічного матеріалу при низькому парціальному тиску кисню. Вимірювання

проводили при 26° С за постійного перемішування в інкубаційному середовищі об'ємом 2,1 мл. Використовувалися два середовища інкубації (ммоль/л): 1) KCl – 60, KH_2PO_4 – 5, EGTA – 1, 10 ммоль/л Hepes/КОН (pH 7,4) (середовище, що містить іони калію); 2) сахарозу – 100, манітол – 50, KH_2PO_4 – 5, MgCl_2 – 2,5, EGTA – 0,5, 10 ммоль/л Hepes-КОН (pH 7,4) (середовище без калію). Концентрація мітохондріального білка в пробі становила ~ 0,5-1 мг/мл. Швидкість дихання мітохондрій визначали в станах: V2 – при окисненні субстрату (5 ммоль/л янтарної та 2,5 ммоль/л глютамінової кислоти), V3 – в присутності 200 ммоль/л АДФ, V4, V_{ДНФ} – швидкість не спряженого дихання в присутності 50 мкмоль/л 2,4-динітрофенола. Швидкості дихання висловлювали в нг-атомах О за 1хв в розрахунку на 1 мг білка мітохондрій.

ДНФ-індукований вихід калію з мітохондрій, що відображає роботу міто- $\text{K}_{\text{АТФ}}$ -каналу в зворотному напрямку, вивчали за допомогою K^+ -селективного електрода («НікоАналіт», Росія) і установки «Record4» (Росія) в комірці об'ємом 1 мл при 26°С і постійному перемішуванні. Середовище інкубації мітохондрій містило (в ммоль/л): сахарози – 170, манітолу – 80, Na_2HPO_4 – 5 та Тріс-НCl (pH = 7.4) – 10. Концентрація мітохондріального білка в осередку становила 0,5-1,5 мг/мл. Вихід калію з мітохондрій індукували додаванням в середовище інкубації 50 мкмоль/л 2.4-динітрофенола. Швидкість виходу іонів калію з мітохондрій виражали в нмоль/(хв×мг білка).

2.7. Тензометричні скорочення ізольованих судинних смужок

Досліди проведені на ізольованих, перфузованих при температурі 37° С нормальним розчином Кребса, кільцевих смужках аорти морської свинки та щурів вагою 0,2 - 0,25 кг. Ізольовані судинні кільця мали діаметр 2 мм, ширину 1,5 мм. Усі тестування проводили в ізометричному режимі при початковій заданій напруженості, при якій вони генерували максимальну силу у відповідь на інфузію норадреналіну (10мкмоль/л). Температуру розчину в експериментальній камері (37°С з точністю до $\pm 0,5^\circ\text{C}$) підтримували за допомогою автоматичного

термостату. Робочий розчин насичувався киснем за допомогою карбогену (газова суміш 95% O_2 і 5% CO_2). Перед вимірюванням, препарати, закріплені в експериментальній камері, витримувалися протягом 60 хв у нормальному розчині Кребса такого складу (в 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 виготовляли еквімолярною заміною NaCl на KCl, кінцева молярність яких була (в ммоль/л): NaCl – 36,3 та KCl – 90 відповідно. Дослідження вазодилаторних ефектів нових відкривачів K_{ATP} -каналів проводили на фоні підвищеного тону аорти, яке отримували за допомогою норадреналіну (10мкмоль/л), ангіотензину II (1мкмоль/л) чи гіперкалієвого розчину Кребса (KCl – 90ммоль/л). Цілісність судинного ендотелію визначали за наявністю ендотелій-залежних тестових реакцій на ацетилхолін (1мкмоль/л).

Схема експериментів.

Вазодилаторні ефекти ДіазоФп, ДіазоФм та флокаліну-С (1-100 мкмоль/л) проводили при вихідному підвищенні судинного тону різного генезу (гіперкалієва деполяризація), норадреналін (10 мкмоль/л) та ангіотензин II (1мкмоль/л). Механізм їх дії вивчали за допомогою інгібітора K_{ATP} -каналів – глібенкламід (10 мкмоль/л) та специфічного блокатора міто- K_{ATP} -каналів – 5-ГД (200 мкмоль/л) (Схема 2.1).



Схема 2.1 Експерименти з інгібуванням K_{ATP} -каналів глібенкламідом та 5-ГД.

Інгібітори вводили в перфузійний розчин за 5хв до дії активаторів. Перед введенням яких подачу глібенкламід у припиняли, тоді як перфузію судинних смужок 5-ГД продовжували на термін введення активаторів.

Відтворення цукрового діабету (ЦД) в експерименті.

Для індукції експериментального ЦД щурам інтраперитонеально вводили стрептозотоцин в дозі 50 мг/кг в 0,1 молярному цитратному буфері (рН=4,5) одноразово [1]. Для підтвердження діабету фотометрично визначали вміст глюкози у сироватці крові із використанням глюкозооксидазного методу («Агат-мед», Україна) та у цільній крові із використанням глюкометра «Глюкофорт» (Україна), а також вміст глюкози у сечі – за допомогою діагностичних смужок «Пентафан» («Lachema», Чехія). Тварин, у яких через 4 тижні після введення стрептозотину значно зростає вміст глюкози у крові ($19,37 \pm 1,29$ ммоль/л) та сечі (>55 ммоль/л), та спостерігаються додаткові ознаки ЦД – полідипсія, поліурія, втрата маси тіла, забивали декапітацією під уретановим наркозом.

2.8. Дослідження ізольованого, перфузованого за Лангендорфом серця

Досліди проведені на ізольованих та перфузованих за Лангендорфом серцях самців щурів та морських свинок масою 250-300гр. Тварин анестезували уретаном (1,4-1,6г/кг) за 10 хв до вилучення серця. Грудну порожнину відкривали на рівні з'єднання ребер і грудини та видаляли серце, яке одразу поміщали в льодовий розчин Кребса-Хензелейта, який містив (ммоль/л): NaCl – 118,2; NaHCO_3 – 25; KCl – 4,8; MgSO_4 – 1,2; KH_2PO_4 – 1,2; CaCl_2 – 1,7; глюкози – 12. Швидкість перфузійного потоку контролювали перистальтичним насосом при підтриманні постійного об'єму перфузії в коронарних судинах. Розчин фільтрували за допомогою фільтру «Sinpore» (діаметр пори – 2,0 мкм) та насичували киснем за допомогою карбогену. За допомогою автоматичного термостата температуру системи підтримували на рівні 37°C з точністю до $\pm 0,5^\circ\text{C}$. Реєстрували такі показники: опір коронарних судин (показник їх функціональної активності), який

оцінювали, спостерігаючи динаміку перфузійного тиску за умов постійної об'ємної швидкості перфузії (метод резистографії); зміну скоротливої діяльності та кінцевий діастолічний тиск, які визначали за змінами тиску в латексному балончику, який вводили в лівий шлуночок, а також за першою похідною тиску в лівому шлуночку – dp/dt . Реєстрацію здійснювали за допомогою приладу Mingograf 34 (фірми “Elema”, Швеція). Аритмії обраховувалися на ділянках, де протягом 1хв їх кількість була максимальною.

Схема експериментів.

Кардіопротекторні ефекти активаторів вивчали в дослідах з моделюванням ішемії (20 хв) та реперфузії (40 хв) серця. Флокалін-С та -Л (оба 5 мкмоль/л) вводили до ішемії протягом 5 хв, ДіазоФм (30 мкмоль/л) протягом 10 хв. Інгібітор міто- K_{ATP} -каналів 5-ГД (200 мкмоль/л) починали подавати за 5 хв до введення активаторів та продовжували протягом перфузії серця активаторами. За контроль приймали ішемію-реперфузію без модуляції активності каналів (схема 2.2).

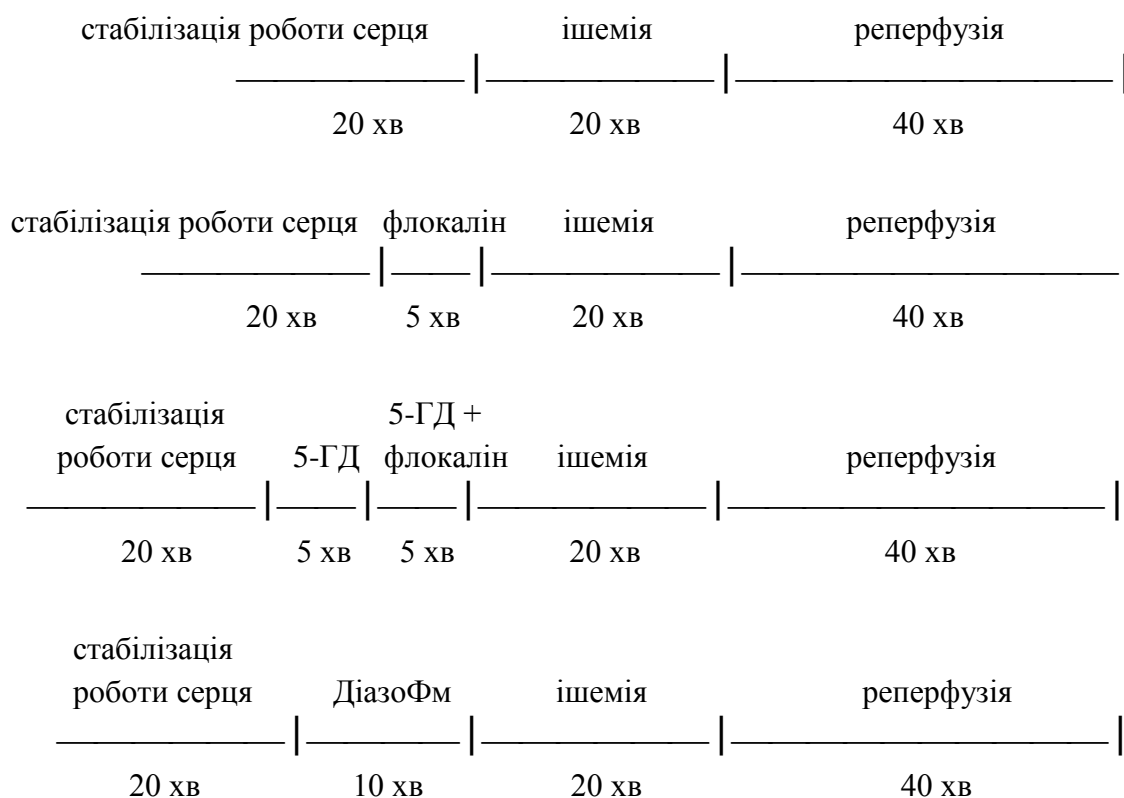


Схема 2.2 Дослідження кардіопротекторних ефектів активації SUR-рецепторів.

2.9. Електронно-мікроскопічні дослідження міокарда

Після експериментів на ізольованих, перфузованих за Лангендорфом серцях морських свинок зі створенням ішемії-реперфузії (20 та 40 хв відповідно) з відкриванням K_{ATP} -каналів флокаліном-С (5 мкмоль/л) та без нього (контроль) серця піддавалися електронно-мікроскопічним дослідженням. Для чого використовувався рутинний метод заливки тканин в епоксидні смоли з фіксацією зразків в 2,5% глютаральдегіді на какоділатному буфері та постфіксацією в 1% осмієвій кислоті. Матеріал заливався епоксидною смолою. Ультратонкі зрізи контрастувалися в уранілацетаті та цитраті свинцю. Дослідження сарколеми проводили з використанням електронно-мікроскопічного трейсера – колоїдного лантану за методом Revel & Karnovski в модифікації В.Г. Шарова [100]. Фіксація міокарда відбувалася з лантаном протягом 12 годин при постійному перемішуванні. Остаточна фіксуюча суміш складалася з 3% лантану і 2,5% забуференого какоділатом глютаральдегіду натрію. Дофіксацію проводили в забуференій 1% осмієвій кислоті, після чого шматочки тканини швидко зневоднювалися і поміщалися в епоксидні смоли. Матеріал вивчався на електронному мікроскопі Jem – 100 CX (Японія).

2.10. Експерименти на анестезованих собаках *in vivo*

В роботі використовували метод ретроградної катетеризації лівої коронарної артерії, що дає змогу відтворювати ішемію-реперфузію без розтину грудної порожнини і зі збереженням спонтанного дихання. Перевагами цього методу є попередження травмування грудної клітки і перикарда та подразнення рефлексогенних зон серця з наступною зміною нервово-рефлекторних реакцій, а також гуморальних зсувів та збереження від'ємного тиску в грудній порожнині та попередження охолодження серця, що сприяє збереженню венозного повернення, кінцево-діастолічного об'єму та серцевого викиду. Досліди виконувалися на безпородних собаках під хлоралозо-уретановим наркозом (0,07 та 0,7 г/кг,

внутрішньовенно). Собаку фіксували на операційному столі та препарували обидві стегнові артерії, праву плечову артерію, сонні артерії та яремні вени з двох боків. Після введення гепарину (500 од/кг) крізь стегнові артерії катетеризували черевний відділ аорти та через ліву сонну артерію – лівий шлуночок серця, для реєстрації артеріального тиску та тиску в лівому шлуночку (К3, рис. 2.2) відповідно.

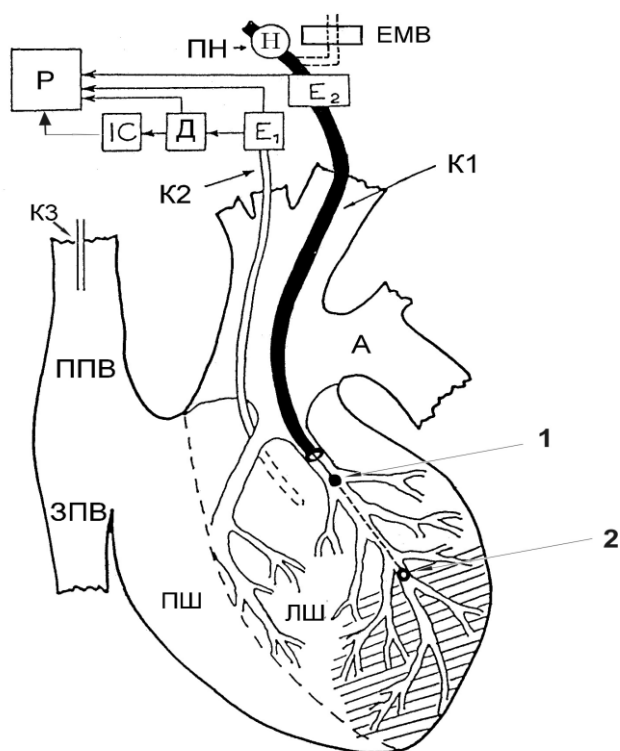


Рис. 2.2 Схема експерименту з катетеризацією, перфузією та емболізацією огинаючої гілки лівої коронарної артерії та реєстрацією показників кардіодинаміки. Дослід з моделюванням ішемії-реперфузії міокарда у тварин без розтину грудної порожнини. А – аорта, ППВ, ЗПВ – передня та задня порожнисті вени, ПШ – правий шлуночок, ЛШ – лівий шлуночок, ПН – перфузійна помпа зі сталим об'ємом, ЕМВ – електромагнітний витратомір, К1 – металевий катетер для катетеризації та перфузії огинаючої гілки лівої коронарної артерії, К2 – катетер для вимірювання тиску в порожнині лівого шлуночка, К3 – катетер для внутрішньовенної інфузії препаратів, Е 1,2 – електроманометри, Д – диференціатор, ІС – прилад для реєстрації індексу скоротливості, Р – прилад для реєстрації, 1 – штучний ембол у вихідній позиції, 2 – штучний ембол у позиції оклюзії гілки коронарної артерії. Заштрихована ділянка – зона ішемії міокарда.

Через праву сонну артерію вводили тонкостінний нікелевий катетер (К1, рис. 2.2), дистальна частина якого була відповідним чином вигнута, довжина катетера 25см, зовнішній діаметром трубки 3 мм і внутрішній діаметр – 2,8 мм. Катетер ретроградно вводився у висхідний відділ аорти і до аортальних клапанів, де після повороту його просовували у гирло лівої коронарної артерії. В цьому катетері знаходилася тефлонова жилка діаметром 0,8-1 мм з потовщенням на кінці, діаметр якого був на 0,2 мм більшим за внутрішній діаметр металевго катетера. Зовнішній кінець металевго катетера був сполучений через трійник з манометром, що дозволяло реєструвати тиск в коронарному руслі. Потрапляння металевго катетера в одну з гілок лівої коронарної артерії приводило до різкого зниження тиску. Після чого, внутрішня тефлонова жилка просувалася вперед на 1 см і розпочинали перфузію коронарної судини власною кров'ю тварини із плечової артерії через помпу з постійним об'ємом. Таким чином, внутрішня жилка вільно розміщувалася в просвіті судини (положення 1, рис. 2.2), не перекриваючи його. Подальше просування внутрішньої жилки з емболом заклинювало дистальний відділ судини (положення 2, рис. 2.2) і викликало ішемію ділянки міокарда, що живилася через обтуровану судину (заштрихована зона). Через декілька секунд після заклинювання розвивалися характерні ЕКГ-ознаки ішемії, а саме, зміщення сегменту ST від ізолінії, збільшення амплітуди зубця Т (І відведення). Реперфузії досягали шляхом підтягування тефлонової жилки до вихідного рівня. Положення ембола перевіряли також після експерименту за розтину грудної порожнини собаки і перикарда. Жилку вводили на таку саму довжину, що і під час експерименту і в місці знаходження емболи накладали лігатуру навколо судини.

Реєстрація гемодинамічних параметрів проводилася по ходу всього досліду за допомогою полікардіографа “Mingograph-82”, фірми Siemens-Elema (Швеція). Запис ЕКГ здійснювався у І та ІІІ стандартних відведеннях. Системний артеріальний тиск (САТ) вимірювали манометром через катетер у черевному відділі аорти, який був введений через праву стегнову артерію. Хвилинний об'єм крові визначали методом термодилуції [32]. В якості індикатора використовували

холодний ($0-5^{\circ}\text{C}$) розчин натрію хлориду 0,9%. Для реєстрації температурною хвилі використовували датчик термоопору типу МТ-54. Запис кривої реєстрували за допомогою електронного автоматичного самозаписуючого потенціометра ЕПП-09 зі швидкістю руху стрічки 4 мм/с і часом пробігу кареткою шкали приладу 1 с. Скоротливу функцію лівого шлуночка оцінювали за змінами першої похідної тиску у лівому шлуночку серця та індексу скоротливості міокарда – $(dP/dt_{\max})/p$, який реєстрували за допомогою спеціалізованого обчислювального пристрою “Індекс” – поударно, “on line”.

Хвилинний об’єм крові розраховували за формулою:

$$XOK = \frac{V \cdot (T - T_i) \cdot 60}{S \cdot f}$$

де, V – об’єм індикатора, що вводили, мл; T_k та T_i – температура крові та індикатора, $^{\circ}\text{C}$, S – сума перпендикулярів (мм) побудованих від початку кривої до точок на ній з інтервалом, що відповідає 1 с.; f – чутливість установки (зміни температури ($^{\circ}\text{C}$), які викликають зміщення каретки потенціометра на 1 мм.

За отриманими даними хвилинного об’єму крові розраховували показник загального периферичного опору за формулою :

$$ЗПО = \frac{AT \cdot 60 \cdot 1332 \cdot 10^{-5}}{XOK} \cdot H \cdot c \cdot cm^{-5}$$

де AT – середній артеріальний тиск; 1332 – коефіцієнт для перерахунку одиниць тиску в одиниці опору.

В експериментах по визначенню впливу активації SUR-рецепторів K_{ATF} -каналів на кардіогемодинаміку та біохімічні показники флокалін-С вводили внутрішньовенно в дозах 0,01 – 1,5 мг/кг, таблетки – флокалін-Л та -Зд – в середину шлунка за допомогою зонду в дозі 2,2, флокалін-З – 1,5, 2,2 та 3,3 мг/кг.

В експериментах з регіональною ішемією (90 хв) з наступною реперфузією (180 хв) міокарда флокалін-С вводили внутрішньовенно в дозі 0,1 мг/кг за 10 хв до ішемії, таблетки флокаліну вводили в середину шлунка за допомогою зонду в дозах 1,5, 2,2 та 3,3 мг/кг за 60 хв до ішемії. Як контроль в цих дослідах використовували ішемію-реперфузію без стимуляції SUR-рецепторів.

2.11. Визначення зон ураження міокарда при локальній ішемії-реперфузії

Після закінчення ішемії-реперфузії з анестезованої собаки видаляли серце та планіметрично визначали площу інфаркту міокарда та площу зони ризику. Останню виявляли шляхом забарвлення інтактних ділянок міокарда за допомогою введення 80-100 мл 1%-го розчину метиленового синього в аорту безпосередньо після видалення серця із грудної порожнини при затягнутому турнікеті в місці оклюзії коронарної артерії. Виділений лівий шлуночок розрізали перпендикулярно його осі на блоки товщиною 0,5 см. Непошкоджений міокард забарвлювався у темно-синій колір, а зона ризику залишалася незабарвленою. Після вимірювання площі зони ризику зразки фарбували нітросинім тетразолієм, який виявляє сумарну активність дегідрогеназ, при цьому некротичні ділянки залишалися незабарвленими.

2.12. Визначення біохімічних показників

Для визначення біохімічних показників протягом експерименту провадився багаторазовий забір крові та після ішемії-реперфузії вилачувалися шматочки міокарда з трьох ділянок лівого шлуночка – інтактної, ризику та некрозу контрольних тварин і експериментальних тварин, а також шматочки міокарда лівого шлуночка інтактних тварин, які негайно заморожувалися у рідкому азоті. Заморожені кусочки серця розтирали в ступці і готували цільні гомогенати на дистильованій воді.

Активність конститутивних (cNOS=eNOS+nNOS) та індукцибельної (iNOS) NO-синтаз визначали за комбінацію класичного метода [460] та його сучасної модифікації [162], пристосованої до спектрофотометричного вимірювання одного з продуктів реакції – L-цитруліну. Для визначення активності сумарної NO-синтази (cNOS+iNOS) аліквоти проб інкубували в загальному об'ємі 1 мл суміші такого складу (мкмоль/мл): KH_2PO_4 – 50, MgCl_2 – 1, CaCl_2 – 2, НАДФН –1, L-

аргінін – 2, рН 7,0 протягом 60 хв при 37°C. Реакцію зупиняли, додаючи 0,3 мл 2N HClO₄. Контроль містив повну субстратну суміш і попередньо денатурований 2N HClO₄ білок. Суміш центрифугували при 3500об./хв протягом 10 хв і в надосадковій безбілковій суміші визначали вміст L-цитруліну високоспецифічним спектрофотометричним методом за кольоровою реакцією з антипірином [147]. Чутливість методу – 0,2 мкг L-цитруліну у 1 мл, завдяки чому він може використовуватися для дослідження активності NO-синтаз, замінюючи загальноживаний радіоактивний метод з використанням радіоактивного L-аргініну. Вимірювання здійснювали проти контролю, що містив повну субстратну суміш, а замість проби – бідистильовану воду. Методика визначення активності iNOS аналогічна попередній за деякими відмінностями: для визначення активності Ca²⁺-незалежної NOS в інкубаційну суміш замість CaCl₂ добавляли 2 мкмоля ЕДТА. Сумарну активність cNOS (eNOS+nNOS) вираховували, віднімаючи від сумарної активності NOS активність iNOS. Активність ферментів розраховували за формулою, що включає в себе екстинцію до і після інкубації, час інкубації, значення білка в пробі та коефіцієнт екстинції продукту реакції – цитруліну при довжині хвилі 465 нм. Отримані дані виражали в пмолях новоутвореного L-цитруліну за 1 хв в розрахунку на 1 мг загального білка проби.

Вміст нітрит-аніона (NO₂⁻) визначали за допомогою калібрувальної кривої (побудованої з використанням NaNO₂ (х.ч.)) в безбілкових аліквотах гомогенатів серця і плазми крові в колориметричній реакції за допомогою реактиву Гріса методом Гріна [241]. Реактив Гріса готували, змішуючи рівні частини 0,1% водного розчину нафтилетилендіаміндігیدрохлориду з 1% розчином сульфаніламіну в 5 % H₃PO₄ безпосередньо перед визначенням.

Вміст нітрат-аніону (NO₃⁻) в безбілкових аліквотах гомогенатів серця та плазми крові визначали бруциновим спектрофотометричним методом. Аліквоти проб інкубували при 100°C протягом 10 хв з бруциновим реактивом, після чого охолоджували і визначали величину екстинції при 405 нм. Бруциновий реактив готували шляхом розчинення 60 мг бруцину ("Sigma", США) у 100 мл 50 % сірчаної кислоти (х.ч.). Кількість NO₃⁻ визначали за допомогою калібрувальної

кривої, побудованої з використанням NaNO_3 (х.ч.).

Вміст високо- і низькомолекулярних нітрозотіолів (BMHT і HMHT) визначали за методом Saville [235], суть якого полягає у вимірюванні вмісту додаткового нітрит-аніона після гідролізу S–NO зв'язку катіонами двовалентної ртуті. Загальний вміст нітрозотіолів (RSNO) визначали як різницю між вмістом NO_2^- до і після гідролізу S–NO зв'язку, а також окремо – вміст HMHT у безбілкових фракціях гомогенатів серця та плазми. Основну частку HMHT становить нітрозоглутатіон (GSNO). Вміст BMHT, що є нітрозильованими білками знаходили як різницю між загальним вмістом RSNO та вмістом HMHT:

вміст HMHT = кількість NO_2^- в безбілковому розчині після гідролізу -
кількість NO_2^- в безбілковому розчині без гідролізу;

вміст BMHT = вміст RSNO - (вміст HMHT + вміст NO_2^-).

Гідроліз білкових розчинів проб здійснювали протягом 10 годин в присутності іонів Hg^{2+} (нітрат ртуті), після чого в гідролізат для осадження білку додавали рівний об'єм 1N HClO_4 та витримували на холоді. Далі центрифугували для отримання безбілкових розчинів, в яких визначали вміст NO_2^- (RSNO).

Активність аргінази визначали у безбілкових фракціях гомогенатів серця та плазми крові методом [101] за утворенням сечовини в інкубаційній суміші (1 мл), що містила L-аргінін і аліквоти проб (гомогенати серця та плазми крові) в трис- HCl буфері ($\text{pH} = 8,0$). Інкубацію проводили при 37°C протягом 60 хв, реакцію зупиняли додаванням 0,3 мл 2N HClO_4 . Осад видаляли центрифугуванням. В залишку суміші визначали вміст сечовини, що утворилася.

Цитрулін визначали колориметричним методом [147]. Безбілкові аліквоти гомогенатів серця та плазми крові змішували з 2 мл реагенту (1 мл 59 ммоль/л диацетилмонооксиму + 1 мл 32 ммоль/л антипірину + 55 мкмоль/л сульфату заліза (2) в 6N H_2SO_4) та 15 хв кип'ятили на водяній бані. Після охолодження визначали величину екстинції при 465 нм. Кількість цитруліну оцінювали за допомогою калібрувального графіку, що був побудований для L-цитруліну (х.ч.).

Вміст сечової кислоти та сечовини визначали в колориметричній реакції за допомогою добірки реактивів фірми «Філіст-Діагностика», м. Дніпропетровськ,

Україна. Для першої до безбілкових аліквот гомогенатів серця та плазми крові додавали розчин карбонату натрію та фосфорновольфрамowego реактиву зі стандартного набору. Інкубували суміш 30 хв при кімнатній температурі, потім визначали величину екстинції при 650 нм. Кількість сечової кислоти в пробах розраховували за екстинцією стандартного розчину сечової кислоти. Для визначення сечовини до суміші (1:1) розчинів діацетилмонооксиму та тіосемикарбазиду додавали 0,01 мл безбілкові проби гомогенатів серця чи плазми крові. Отриману суміш витримували протягом 10 хв на киплячій водяній бані, охолоджували і визначали фотометричним методом при 500 нм. Концентрацію сечовини розраховували, використовуючи оптичну густину калібрувальної проби.

Вміст загального білірубину в безбілкових гомогенатах серця та плазми крові визначали методом Яндрашика з використанням стандартної добірки реактивів АТ «Реагент» м.Дніпропетровськ, Україна. У присутності кофеїнового реактиву діазотована сульфанілова кислота утворює з білірубіном азобілірубін (рожево-фіолетового кольору), за інтенсивністю забарвлення якого визначали концентрацію загального білірубину.

Вміст заліза визначали спектрофотометрично з використанням добірки реактивів фірми «Філіст-Діагностика» (м.Дніпропетровськ, Україна).

Вміст сфінгозину визначали за допомогою калібрувальної кривої (побудована з використанням реактиву фірми “Sigma”, США) в ліпідних екстрактах проб колориметричним методом [235], що полягає в зміні кольору при взаємодії сфінгозину з барвником метилоранж. Забарвлену речовину екстрагували етилацетатом та оцінювали величину екстинції при 415 нм.

Вміст загального білка визначали методом Бредфорд з використанням барвника Cumassі G-250 (“Ferrak”, Німеччина).

Вміст арахідонової кислоти, LTC₄ та TxV₂ визначали в спиртових екстрактах із заморожених в рідкому азоті і розтертих у порошок кусочків серця та плазми крові. Спиртові екстракти висушували при 40°C у повітряному термостаті і методом тонкошарової хроматографії на пластинках силікагелю, з наступною елюцією і спектроскопією елюатів в 1,0 см кварцевих кюветах при 210

ним визначали вміст арахідонової кислоти. Вміст ейкозаноїдів визначали за допомогою радіоімунного методу, користуючися стандартними добірками реактивів фірми «Amersham», Англія. Радіоактивність проб визначали на лічильнику фірми «Beckman», Німеччина.

Для визначення пулів сумарних продуктів деградації АТФ і ГТФ спектрофотометрично визначали поглинання безбілкових аліквот плазми крові та гомогенатів серця при 254 нм (ΔE_{254}), що характеризує наявність в розчині цих продуктів – інозину, ксантину та гіпоксантину. Вимірювання поглинання розведених безбілкових аліквот проб здійснювали на спектрофотометрі СФ-26 ЛОМО у кварцевій кюветі шириною 1 см. Колориметричним методом Ю.М.Островського [55] також визначали вміст неорганічного фосфату, що утворюється при послідовній деградації як АТФ, так і ГТФ.

Для визначення вмісту H_2O_2 в безбілкові аліквоти гомогенатів та плазми крові додавали в кварцеву кювету (1 см), що містила 2 мл 0,1М розчину КІ, надлишку лактопероксидази (50 нМ) в 0,05М фосфатному буфері рН = 7,33. Фіксували швидкі зміни екстинції проб при 353нм. Кількість H_2O_2 виражали в пмоль/мг білку проби, використовуючи коефіцієнт молярної екстинції $\varepsilon = 26000 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ [173].

Інтенсивність вільнорадикальних реакцій визначалися за допомогою H_2O_2 -індукованої хемілюмінесценції (ХЛ). Власна ХЛ низька, тому її активують певною дозою H_2O_2 . Суть методу полягає в наступному: плазму крові вводили у вимірювальну камеру, яка розміщувалася під катодом ФЕУ-39А. Спочатку реєстрували фон установки при зачиненій шторці, потім власну ХЛ при відкритій шторці, після цього вводили пероксид водню та протягом 5хв реєстрували індуковану ХЛ. Реєстрація відбувалася за допомогою “Хемілюмінографа ЕА-1”. Вимірювалися наступні кінетичні параметри ХЛ: загальна світлосума реакції за 5 хв (ΣS), інтенсивність швидкого спалаху (I_{\max}) та швидкість затухання ХЛ (I_5).

Вміст дієнових кон’югатів визначали спектрофотометрично по поглинанню при 232 нм гептанових екстрактів проб по методу [9]. Малоновий діальдегід (МДА) визначали за методом [67]. За яким, до безбілкових аліквот гомогенатів

серця і плазми крові додавали 0,5 мл 1% розчину тіобарбітурової кислоти в 50 ммоль/л NaOH і 0,5 мл 2,8% розчину трихлороцтової кислоти. Отриману суміш витримували 20 хв на киплячій водяній бані, охолоджували і визначали величину екстинції при 532 нм. Обрахунки здійснювали за формулою: $C = E2/0,156$, де E – екстинція проби, що досліджується.

Стан антиоксидантної системи оцінювали у гомогенатах сердець за показниками активності ключових ферментів антиоксидантного захисту. Активність СОД визначали за методом С. Чеварі [99]. Активність ферменту виражали в умовних одиницях (у.о.), де 1 у.о. відповідає 50% блокування активності ферменту. Активність каталази визначали за методом Корольок М.А. та співав. [15] та виражали в ммоль/хв на 1мг білка плазми крові.

2.13. Визначення алельних поліморфізмів SUR та Kir6.x білків

Визначення частоти алельного поліморфізму генів проведено із використанням венозної крові 425 добровольців (78,4 і 21,6% чоловіків та жінок відповідно): 108 практично здорових людей, 117 осіб з гострим інфарктом міокарда (ІМ), по 100 хворих з гострою (індукованою ІМ) та хронічною серцевою недостатністю віком від 40 до 83 років (середній вік 60 років), госпіталізованих у відділення реанімації та інтенсивної терапії Національного наукового центру "Інститут кардіології імені академіка М.Д. Стражеска" НАМН України. Діагноз ІМ та нестабільної стенокардії (НС) встановлено на підставі даних клінічних, електрокардіографічних і біохімічних обстежень, відповідно до рекомендацій європейського та американського товариств кардіологів [134, 148]. Контрольну групу складали 108 практично здорових донорів, в яких відсутність серцево-судинної патології підтверджували шляхом збору анамнестичних даних, зняття електрокардіограми та вимірювання артеріального тиску.

Для генотипування венозну кров набирали в стерильних умовах у моновети об'ємом 2,7 мл з калієвою сіллю етилендіамінтетраоцтової кислоти в якості антикоагулянту ("Sarstedt", Німеччина), заморожували та зберігали при T°C -20°C.

Виділення ДНК проводили із застосуванням наборів NeoPrep50 (Неоген, Україна). Його концентрацію визначали за допомогою спектрофотометра NanoDrop ND 1000 ("NanoDrop Technologies Inc.", Вілмінгтон, штат Делавер, США). Алельний поліморфізм Glu23Lys (rs5219, з заміщенням глютаміну на лізин) та Ile337Val (rs5215, з заміщенням ізолейцину на валін) гена KCNJ11 та Ser1369Ala (rs757110, з заміщенням серину на аланін) гена ABCC8 визначали за допомогою системи 7500 Fast Real-time PCR System (Applied Biosystems, Foster City, USA), із застосуванням Taq-Man® Fast Universal PCR Master Mix, TaqMan® SNP Assay C_11654065_10, C_2991148_10 та C_600632_20 відповідно. Програма ампліфікації складалася з 50 циклів (денатурація – 92°C, 15 с, гібридизація та елонгація – 60°C, 1 хв), після чого проводився аналіз по дискримінації алелей.

2.14. Визначення експресії генів, що кодують SUR1, SUR2, Kir6.1 та Kir6.2

Для визначення експресії SUR та Kir6.x РНК екстрагували із міокарда SHR та Wistar-Kyoto щурів. Концентрацію загального ДНК і РНК визначали за допомогою NanoDrop спектрофотометра ND1000 (NanoDrop Technologies Inc., США). Зворотну транскрипцію проводили із використанням RevertAid First Strand cDNA Synthesis Kit (Thermo Scientific, США). Отриману одноланцюгову ДНК використовували для полімеразної ланцюгової реакції (PCR) із застосуванням праймерів: Kir6.1 Up 5'-TCT CTT CTC CAT CGA GGT TCA-3', Kir6.1 Dw 5'-CTG CAG AAT CAA AAC CGT GAT-3'; Kir6.2 Up 5'-ATG AGAGAA AGG GGG ACA AGA-3', Kir6.2 Dw 5'-AGG CTG GAG TCA AGG GTA GAG-3'; SUR1 Up 5'-GGG CTT CTG GTG ATC CTC TAC-3', SUR1 Dw 5'-GGC TTT ACT TCC CTT GGT GTC-3'; SUR2 Up 5'-GCT CTG GAA ATT GCT CAG TTG-3', SUR2 Dw 5'-CTG TCC AAC GCT GAA GTT CTC-3'. Для контролю за якістю виділення РНК та порівняння інтенсивності експресії генів KCNJ8, KCNJ11, ABCC8 та ABCC9 паралельно ампліфікували фрагмент гену β-актину – одного із house-keeping генів з використанням наступних праймерів: Beta-actin Up 5'-AAG TCC CTC ACC CTC CCA AAA-3', Beta-actin Dw 5'-AAG CAA TGC TGT CAC CTT CCC-3'.

Ампліфікація складалася з наступних циклів: денатурація – 95°C, 20 с, приєднання праймерів – 95°C, 3 с і елонгація 60 ° С протягом 30 с (45 циклів) з використанням 7500 Fast Real-Time PCR (Applied Biosystems). Аналіз даних проводився з 7500 Fast Real-Time PCR Software.

2.15 Використані реактиви

Усі реактиви, що використовували для приготування перфузійних розчинів, середовищ виділення та інкубації, а також: норадреналін, ангіотензин II, ацетилхолін, глібенкламід, 5-гідроксидеканоїнова кислота, диметилсульфоксид, хлоралоза, уретан, стрептозотозин, циклоспорин А, діазоксид, антипірин, біс-бензимід (Hoechst 33342), йодид пропідіум, лактопероксидаза, метил-оранж, етилацетат, диацетилмонооксим, тіобарбітурова та трихлороцтова кислота, бруцин, сульфаніламін, нафтилетилендіаміндігідрохлорид, ферриціанід калію, метиленовий синій та нітросиній тетразолій були виробництва фірми «Sigma-Aldrich» (США). В експериментах також використовувалися трис-НСІ (виробництва фірми «Calbiochem», США), барвник Cumassi G-250 («Ferrak», Німеччина), калієва сіль етилендіамінтетраоцтової кислоти («Sarstedt», Німеччина), теляча сироватка («Gibco», США), TaqMan® SNP Assay C_11654065_10, C_2991148_10 та C_600632_20, та 7500 Fast Real-time PCR System (Applied Biosystems, Foster City, USA), праймери: Kir6.1 Up 5'-TCT CTT CTC CAT CGA GGT TCA-3', Kir6.1 Dw 5'-CTG CAG AAT CAA AAC CGT GAT-3'; Kir6.2 Up 5'-ATG AGAGAA AGG GGG ACA AGA-3', Kir6.2 Dw 5'-AGG CTG GAG TCA AGG GTA GAG-3'; SUR1 Up 5'-GGG CTT CTG GTG ATC CTC TAC-3', SUR1 Dw 5'-GGC TTT ACT TCC CTT GGT GTC-3'; SUR2 Up 5'-GCT CTG GAA ATT GCT CAG TTG-3', SUR2 Dw 5'-CTG TCC AAC GCT GAA GTT CTC-3', Beta-actin Up 5'-AAG TCC CTC ACC CTC CCA AAA-3', Beta-actin Dw 5'-AAG CAA TGC TGT CAC CTT CCC-3' (Applied Biosystems, Foster City, USA), добірки реактивів фірм «Філіст-Діагностика» та АТ «Реагент» (м. Дніпропетровськ, Україна), набори NeoPrep50 (Неоген, Україна), «Amersham» (Велика Британія).

ДіазоФм, ДіазоФп, тіофлокалін, флокалін-С (субстанція) та їх розчинник диметілацетамід були вироблені співробітниками Інституту органічної хімії НАН України (проф. Л.М. Ягупольський). Таблетки флокаліну – флокалін-Л, -Зд та -З (серії: 150405, 210803 і 251007 відповідно) були вироблені на базі ПАТ НВЦ “Борщагівський хіміко-фармацевтичний завод” (м.Київ, Україна). Субстанція для першої була синтезована в лабораторних умовах (флокалін-Л). Флокалін-Зд та -З були повністю виготовлені у заводських умовах. Флокалін та тіофлокалін відрізняються від закордонного аналогу пінациділу присутністю у молекулі (замість піридилного) бензольного кільця з дифторометоксигрупою (для першого) та дифторометилтіогрупою (для другого) у 4 положенні відповідно [34]. ДіазоФм та ДіазоФп відрізняються від діазоксиду відсутністю в молекулі атому хлору та наявністю фторвмісної групи, яка у першому випадку розташована в мета, у другому – в пара положенні відносно атома азоту відповідно [35].

2.15. Статистичне оброблення результатів

Отримані результати обробляли математично за методом варіаційної статистики за допомогою комп'ютерних програм "Excel 2000", Origin 7.0 («Microcall Inc.», США) та статистичного програмного пакета IBM SPSS Statistics 22.0. Достовірність результатів визначали за критерієм t Стюдента. Статистичну значущість результатів молекулярно-генетичних досліджень оцінювали за тестом Харді-Вайсберга, критерію χ^2 та моделями успадкування: кодомінантної, домінантної, рецесивної, наддомінантної та адитивної. Розподіл алель них поліморфізмів було перевірено тестом Колмогорова-Смирнова. Рівність відмінностей між групами оцінювалася за допомогою тесту Левена. One-Way ANOVA (аналіз дисперсії) виконували, якщо спостерігалася гомоседкостильність. Тести Брауна-Форсайт та Велха були використані в разі гетероскедастичності. Тест Tukey HSD був використаний для мультимірних порівнянь. Значення $P < 0,05$ розглядали як статистично достовірні.

РОЗДІЛ 3

ВИВЧЕННЯ МЕХАНІЗМІВ ДІЇ НОВИХ ВІТЧИЗНЯНИХ АКТИВАТОРІВ K_{ATP} -КАНАЛІВ В ЕКСПЕРИМЕНТІ**3.1. Вплив активації SUR-рецепторів на загальну електричну активність та іонний транспорт через плазматичну та мітохондріальну мембрану****3.1.1. Вплив активації SUR-рецепторів на електричну активність ізольованих кардіоміоцитів.**

Загальну збудливість кардіоміоцитів досліджували після встановлення експериментальної “петч-клемп” конфігурації “ціла клітина” в режимі фіксації струму. При цьому проводили неперервну реєстрацію ПС та ПД кардіоміоцита, які викликали за допомогою деполяризуючих імпульсів струму амплітудою 400 пА, тривалістю 2 мс та частотою 0,25 Гц. Оскільки штучний внутрішньоклітинний розчин, яким заповнювалася “петч” піпетка для реєстрації, не містив кальцієвих хелаторів, то генерація кожного ПД супроводжувалася незначними скороченнями кардіоміоцита. Насамперед, на протязі 2-3 хв проводили контрольну реєстрацію електричної активності, з метою попередження перехідних змін ПС і ПД, що виникають внаслідок діалізу клітини штучним внутрішньоклітинним розчином, та отримання контрольних значень ПС та ПД [475]. Після виходу показників електричної активності за контрольних умов на стаціонарний рівень прикладали субстанцію флокаліну і реєстрували зміни активності кардіоміоцитів. По закінченню цих змін препарат відмивали. Ефект дії активатора SUR-рецепторів в концентрації 5 мкмоль/л на ПД неонатальних кардіоміоцитів з різних ділянок серця зображено на рис. 3.1 [6, 538].

У клітинах ендокарду, епікарду шлуночка та клітинах передсердя він гіперполяризував ПС приблизно на 3 мВ та значно скорочував тривалість ПД (ТПД). При відмиванні препарату всі показники частково відновлювалися. Водночас скорочення ПД клітин епікарду було найменш зворотнім. Зміни ПС та

ТПД при додаванні активатора SUR-рецепторів і після його відмивання фізіологічним розчином відбувалися найшвидше у випадку кардіоміоцитів ендокарду шлуночка, а найповільніше – у випадку клітин передсердя. У перших також спостерігалися найбільші зміни форми ПД, а саме, переважне зменшення фази плато, тоді як в інших типах клітин форма ПД змінювалася більш пропорційно до тривалості.

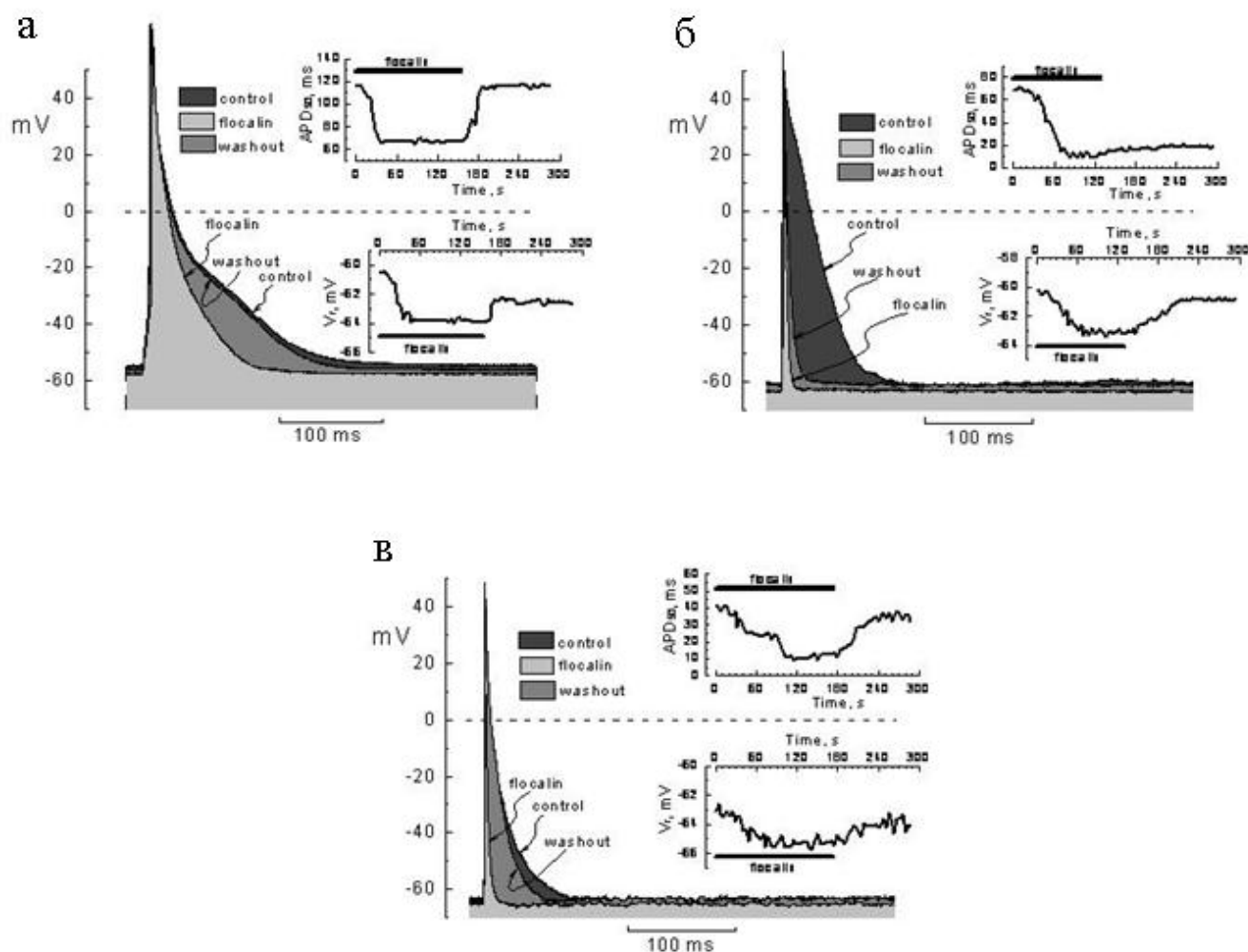


Рис. 3.1 Вплив активації SUR-рецепторів на потенціал дії та потенціал спокою різних підтипів неонатальних кардіоміоцитів: вентрикулярних ендокардіальних (а) та епікардіальних (б), та передсердя (в). Криві потенціалу дії на рисунку позначено: за контрольних умов (темно-сіра зона і нижче), в присутності 5 мкмоль/л флокаліну-С (світло-сіра зона), за відмивання протягом 5 хв (сіра зона і нижче). Справа показані змін тривалості ПД на рівні 90 % реполяризації (APD₉₀) і величини потенціал спокою (Vr) за активації SUR

Стимуляція SUR-рецепторів практично не змінювала амплітуду та початкову швидкість наростання (ПШН) ПД у клітин ендокарду шлуночків, проте помітно зменшував ці параметри в епікардіальних та передсердних клітинах (рис. 3.2).

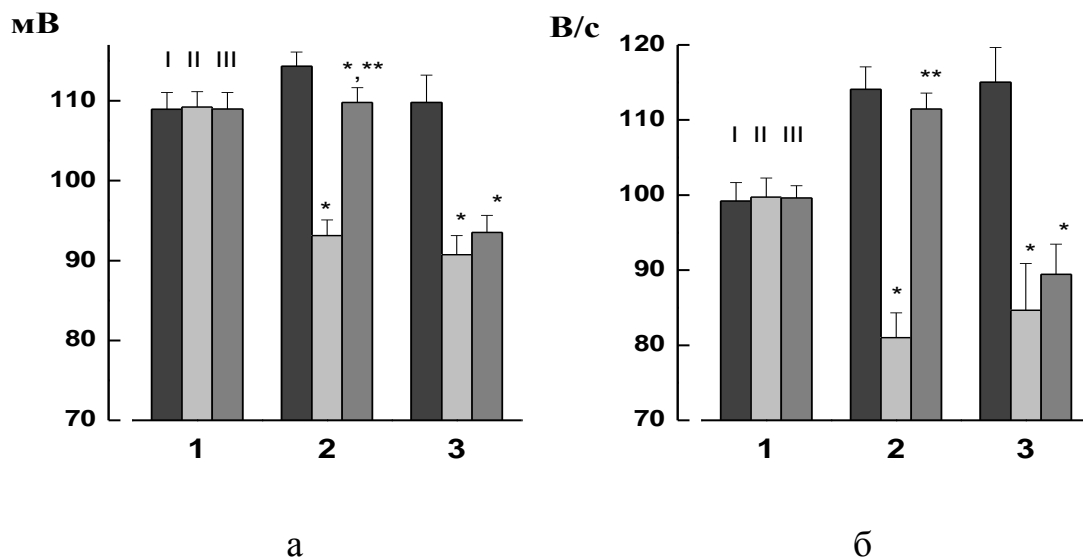


Рис. 3.2 Вплив активації SUR-рецепторів на амплітуду (а) та ПШН (б) ПД неонатальних кардіоміоцитів в контрольних умовах (I), після прикладання (II) та відмивання (III) флокаліну (5 мкмоль/л) у вентрикулярних кардіоміоцитах ендокарду (1) та епікарду (2), та клітин передсердя (3); $n=4$ для кожного типу кардіоміоцитів; * $P<0,05$ порівняно з контролем, ** $P<0,05$ порівняно з показниками при активації SUR

Індуковані активацією SUR-рецепторів зміни амплітуди та ПШН ПД були практично не зворотними у клітин передсердя та повністю відновлювалися у клітин епікарду шлуночків. Отже, по зворотності дії на ТПД та амплітудним характеристикам в епікардіальних і передсердних кардіоміоцитах ефекти активації SUR флокаліном відрізнялися.

У кардіоміоцитів зі спонтанною скоротливістю відбувалися періодичні ПД з частотою 1-2 Гц (рис. 3.3). Активація SUR флокаліном (5 мкмоль/л) викликала мало зворотне зниження ПС (на 8-12 мВ), значне зменшення частоти ПД спонтанних скорочень (вдвічі-тричі) та рівня внутрішньоклітинного кальцію (рис.

3.3). Після відмивання клітин фізіологічним розчином спостерігалася незначна аритмічність скорочень. Водночас зменшувалася тривалість спонтанних ПД та дещо зростали їх амплітуда і ПШН в фазі деполяризації [538].

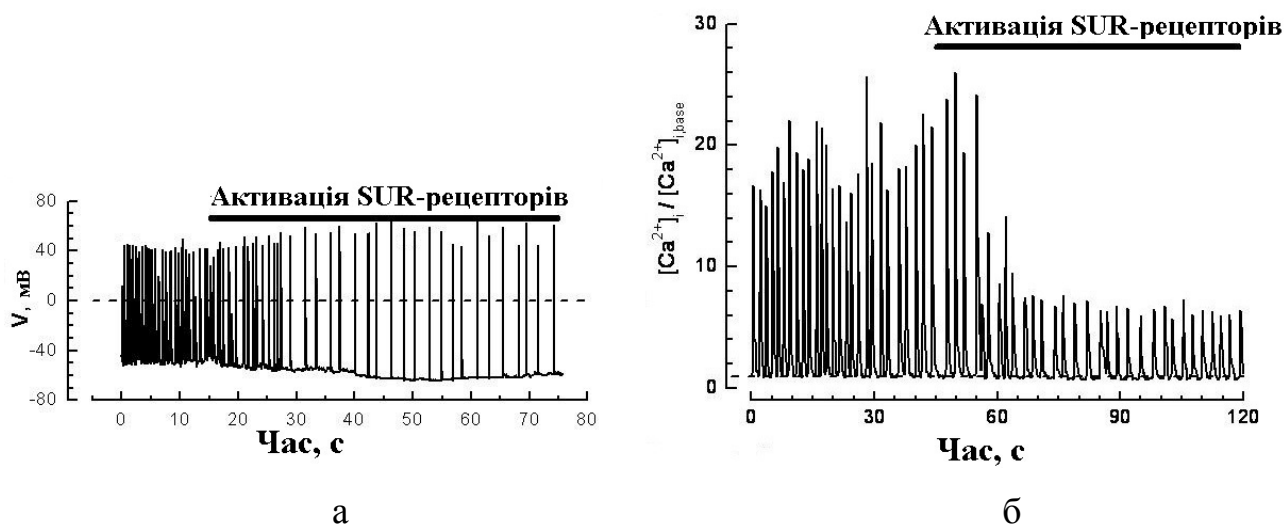


Рис. 3.3 Ефекти активації SUR-рецепторів на спонтанно скоротливих неонатальних культивованих кардіоміоцитах щурів; а – типові записи електричної активності спонтанно скоротливих ендокардіальних вентрикулярних міоцитів за дії 10 мкмоль/л флокаліну (позначено горизонтальною рисою); б – зміна рівнів внутрішньоклітинного кальцію в Fluo-4-завантажених міоцитах за дії 10 мкмоль/л флокаліну (позначено горизонтальною рисою).

3.1.2. Дія нових активаторів SUR-рецепторів на гетерологічно експресовані K_{ATP} -канали.

Оскільки нативні кардіоміоцити характеризуються експресією великою кількістю різних іонних каналів і відповідно широким спектром їх струмів, дослідження дії флокаліну на електрозбудливість кардіоміоцитів проводили на лінії клітин HEK-293 із стабільною експресією Kir6.2 і SUR2A (клітини HEK-293_{6.2/2A}) кардіоспецифічного K_{ATP} -каналу.

За 4 ммоль/л внутрішньоклітинного Mg-АТФ, HEK-293_{6.2/2A} клітини в широкому діапазоні мембранних потенціалів (від -110 до +90 мВ) виявляли незначний, незалежний в часі фоновий струм, густина якого при +60 мВ була близько 10 пА/пФ (рис. 3.4).

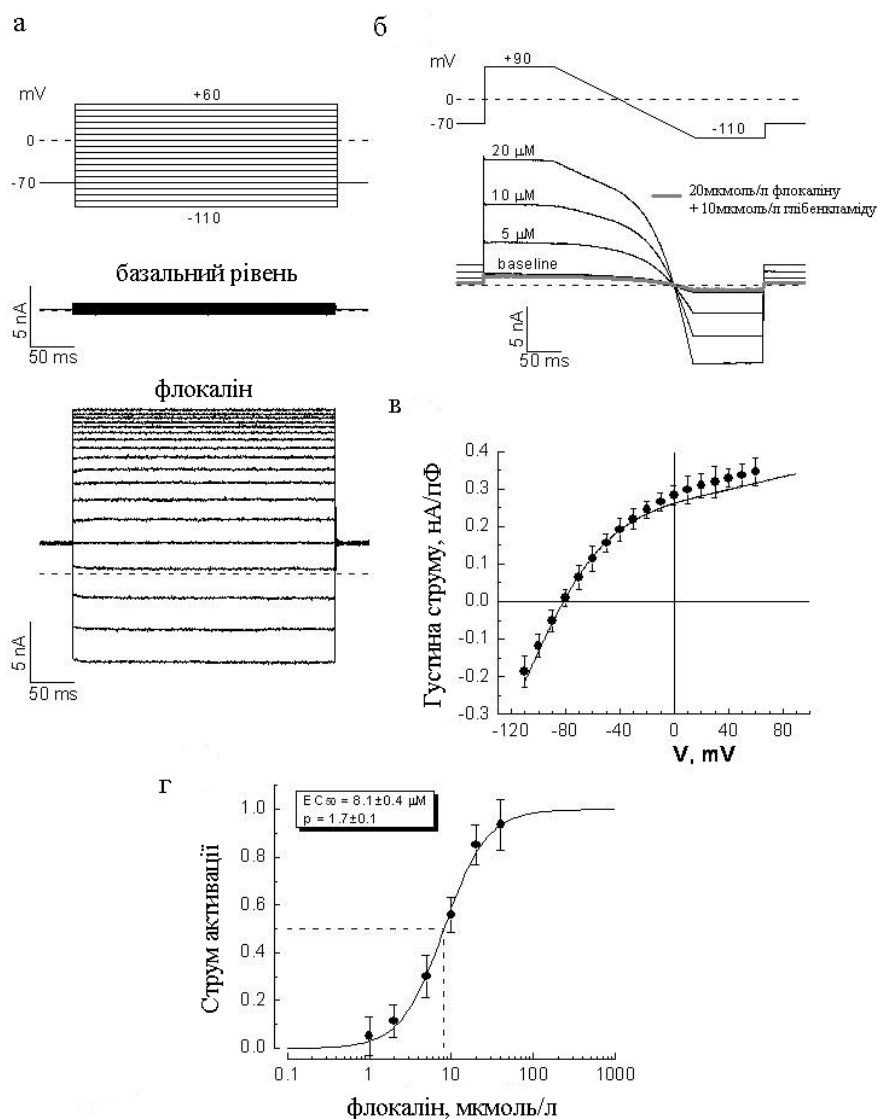


Рис. 3.4 Флокалін-активовані струми (I_{KATF}) в клітинах HEK-293_{6,2/2A}; *a* – запис фонового (середня частина) і флокалін (20 мкмоль/л)-активованих струмів (нижня частина) у відповідь на імпульсний шаговий потенціалу (показаний зверху); *б* – запис фонового струму цих клітин та у присутності 5, 10, 20 мкмоль/л флокаліну, та разом 20 мкмоль/л флокаліну і 10 мкмоль/л глібенкламід (сіра лінія) у відповідь на лінійно змінний потенціал (показаний зверху); пунктирними лініями в *a* і *б* позначено нульові рівні струму і потенціалу; *в* – усереднена ВАХ флокалін-активованого I_{KATF} , побудована по ділянці струму у відповідь на лінійно змінний потенціал (лінія) та по значенням струму при кожному ступінчатому потенціалі (символи); *г* – дозо-залежні ефекти флокаліну (при +90 мВ) на активацію I_{KATF} та її апроксимація функцією Хіла (неперервна крива); значення IC_{50} та параметра кооперативності k вказані на графіку.

Флокалін в концентрації 5-20 мкмоль/л викликав значний незалежний в часі струм з ознаками внутрішнього випрямлення (диференційна провідність у вихідному напрямку зменшувалася) та потенціалом реверсії близьким до рівноважного потенціалу для калію (E_K), який за наших експериментальних умов був -83 мВ, що вказувало на його калієву природу (рис. 3.4 в). Цей струм був дозо-залежним, з густиною 310 ± 30 пА/пФ за дози 20 мкмоль/л та потенціалі +60 мВ. Зважаючи на те, що специфічний блокатор K_{ATP} -каналів глібенкламід (ГБК, 10 мкмоль/л) пригнічував флокалін-активований струм (рис. 3.4 б), до значень менших за контроль (струм без флокаліну), а його потенціал реверсії збігався із E_K , то він був ідентифікований як струм, що виникав за відкривання в клітинах НЕК-293_{6.2/2A} саме гетерологічно експресованих K_{ATP} -каналів ($I_{K,ATP}$). Слід зауважити, що блокада ГБК флокалін-індукованого $I_{K,ATP}$ струму у клітинах НЕК-293_{6.2/2A} до рівнів, нижчих за їх фоновий струм (без флокаліну), свідчить, що незначний внесок у фоновий струм клітин НЕК-293_{6.2/2A} роблять базально активовані K_{ATP} -канали. Наявність внутрішнього випрямлення (особливо помітно при деполяризаціях вищих за -50 мВ) для флокалін-індукованого $I_{K,ATP}$ та положення його потенціалу реверсії видно по вольт-амперним характеристикам (ВАХ), що були отримані як на основі прикладання лінійно змінного потенціалу, так і прямокутних імпульсів до різних значень мембранного потенціалу (рис. 3.4 а, в) [538].

Апроксимація дозо-залежності активації $I_{K,ATP}$ за допомогою флокаліну, що побудована на основі вимірювань амплітуди струму при потенціалі +90 мВ за різних концентрацій флокаліну, функцією Хілла дала значення концентрації половинної активації струму $IC_{50} = 8,1 \pm 0,4$ мкмоль/л та коефіцієнту кооперативності – $k = 1,7 \pm 0,1$ (рис. 3.4 г) [538].

Таким чином, вперше показано, що флокалін збільшує калієву провідність за рахунок активації SUR-рецепторів K_{ATP} -каналів та, через гіперполяризацію ПС і скорочення ТПД ефективно знижує електричну збудливість різних типів нативних кардіоміоцитів. Значне зменшення ТПД під час його дії призводило до пригнічення як індукованих, так і спонтанних скорочень кардіоміоцитів, що

відбувалося внаслідок суттєвого зниження входу Ca^{2+} . При цьому, порівняно невелику (~ 5 мВ) флокалін-індуковану гіперполяризацію на фоні значного скорочення ТПД можна пояснити тим, що ПС кардіоміоцитів визначається Kir каналами із сильним внутрішнім випрямленням (насамперед Kir2.1 [290]), які забезпечують значну калієву провідність тільки поблизу E_K , а за деполяризації мембрани ця провідність сильно знижується. За таких умов додаткове збільшення калієвої провідності при відкриванні K_{ATP} каналів, для яких характерним є дуже слабке внутрішнє випрямлення, мало позначається на ПС, проте виступає значним гіперполяризуючим чинником при деполяризаційних потенціалах, вищих за ПС під час генерації ПД [6, 538].

Зменшення амплітуди та ПШН ПД в шлуночкових епікардіальних і передсердних кардіоміоцитах за збільшення ПС і скорочення ПД дозволяє припустити, що флокалін-С може також частково блокувати канали вхідного струму – швидкі натрієві та L-типу кальцієві. На користь можливого блокування останніх свідчить, те, що в ендокардіальних клітинах шлуночка флокалін-С переважно усував саме фазу 2 плато ПД, залишаючи незмінними фази деполяризації та початкової швидкої реполяризації. Що було підтверджено в іншій серії експериментів. Де вперше показано, що флокалін безпосередньо дозозалежним чином інгібує потенціалзалежні натрієві (ПЗНК) та високопорогові кальцієві (ВПКК) канали, що полягає у впливі на їх воротні структури (у випадку ПЗНК інактиваційні, а ВПКК – активаційні), та у блокуванні іонтранспортної функції. Проте величина напівмаксимальних ефектів блокування $\text{IC}_{50} = 17,1 \pm 2,1$ та $\text{IC}_{50} = 23,4 \pm 3,4$ мкмоль/л для ПЗНК- та ВПКК-каналів відповідно є значно вищою ніж EC_{50} для активації K_{ATP} -каналів флокаліном ($8,1 \pm 0,4$ мкмоль/л) та його оптимальних доз для кардіопротекції (5 мкмоль/л, див. далі розділ 4 і 5) [80, 535, 536]. Отже, інгібування цих каналів вхідного струму флокаліном має незначний внесок у кардіопротекцію. Більш суттєвим для останньої є пригнічення активності кальцієвих каналів L-типу опосередковане гіперполяризацією цитоплазматичної мембрани саме за відкривання K_{ATP} -каналів [295, 395].

Відмінності у ефектах активації SUR-рецепторів калієвих каналів

флокаліном в різних типах кардіоміоцитів на ПД, як по своїй інтенсивності (відсутність змін амплітуди та ПШН ПД у клітин ендокарду порівняно з їх наявністю у клітин епікарду та передсердь), так і по ступеню зворотності при відмиванні препарату (зворотність змін амплітуди та ПШН ПД у клітин епікарду, та їх незворотність у клітин передсердя; зворотність зменшення ТПД ендокардіальних та передсердних клітин порівняно з їх незворотністю в епікарді) підтверджує відомості про різний субодиничний склад K_{ATP} -каналів шлуночків та передсердь [218, 238] (див. пункт 1.3.1).

Отже, флокалін є ефективним відкривачем сарко- K_{ATP} -каналів з гальмівним впливом на електричну активність кардіоміоцитів зі значенням концентрації половинної активації каналу $EC_{50} = 8,1$ мкмоль/л, що є нижчим, ніж відповідне значення найближчого іноземного аналога – пінациділу [475, 538]. Гіперполяризуючи мембрану флокалін знижує вхід кальцію в цитоплазму кардіоміоцита під час ПД. Форма кривої дозозалежності активації калієвого струму ($I_{K_{ATP}}$) та параметри її апроксимації функцією Хіла свідчать про позитивну кооперативність ($k = 1,7$) взаємодії флокаліну з каналом [6, 538].

3.1.3. Дія нових активаторів на міто- K_{ATP} -канали

Відомо, що при відкриванні міто- K_{ATP} -каналів іони калію надходять до мітохондрій, що деполяризує внутрішню мембрану та спричиняє надходження аніонів слабких кислот (Cl^- , ортофосфату), води та помірне набухання матриксу мітохондрій [175, 232, 399]. Набухання мітохондрій (реєструється при $\lambda=520$ нм) за дії фармакологічних активаторів, що попереджується специфічним інгібітором цих каналів 5-ГД, використовують як тест-систему для ідентифікації сполук щодо відкривання міто- K_{ATP} -каналів є [293, 545].

Вперше показано, що флокалін і тіофлокалін викликають характерне для активації згаданих каналів помірне набухання ізольованих мітохондрій серця щурів з максимальним рівнем за дози 10 та 0,1 мкмоль/л відповідно (рис. 3.7). Ці ефекти попереджалися 5-ГД (10 мкмоль/л), що може свідчити про їх дію саме на

K_{ATP} -канали мітохондріальної мембрани (рис. 3.8) [72, 489].

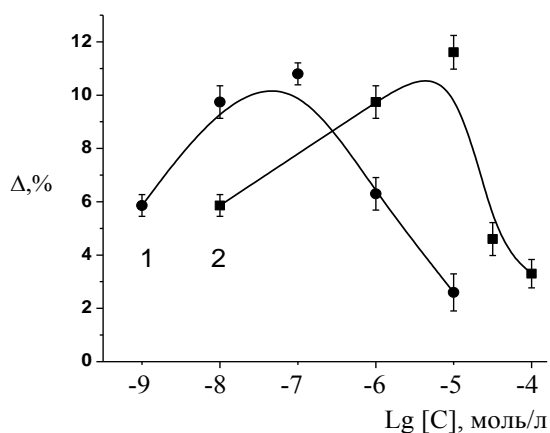


Рис. 3.7 Концентраційна залежність впливу нових фторвмісних активаторів K_{ATP} -каналів тіофлокаліну (1) та флокаліну (2) на набухання мітохондрій серця щурів.

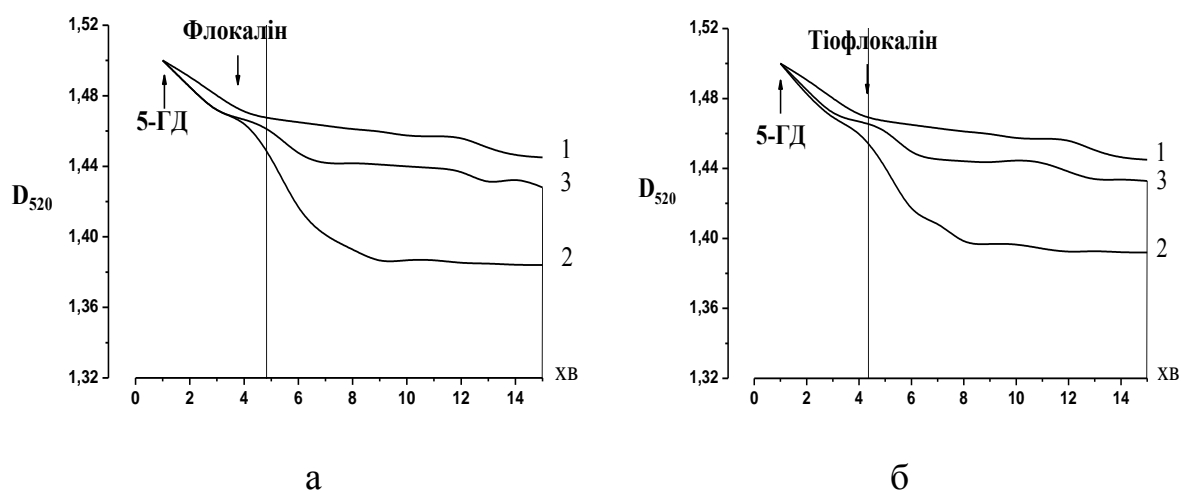


Рис. 3.8 Індуковане флокаліном (10 мкмоль/л) (а) та тіофлокаліном (0,1 мкмоль/л) (б) набухання мітохондрій серця щурів та пригнічення міто- K_{ATP} -каналів за допомогою 5-ГД (10 мкмоль/л): 1— контроль; 2 — дія активаторів K_{ATP} -каналів ; 3 — преінкубація з 5-ГД та дія вищезазначених активаторів.

Проте необхідно розрізняти фізіологічне набухання (зокрема, при відкриванні міто- K_{ATP} -каналів), та патологічне, що відбувається внаслідок утворення МП, вивільнення з матриксу в цитоплазму цілого ряду активних речовин, зокрема фактору індукції апоптозу (AIF) і цитохрому *c*, які є тригерами апоптозу, та загибелі клітин в наслідок розвитку апоптозу чи некрозу [187, 494].

Водночас в наших експериментах, класичний інгібітор МП – циклоспорин А (ЦсА) у концентрації 10 мкмоль/л не впливав на цей процес (рис. 3.9). Що може свідчити про те, що причиною набухання мітохондрій є не відкривання МП, а саме індуковане флокаліном і тіофлокаліном відкривання міто- K_{ATP} -каналів.

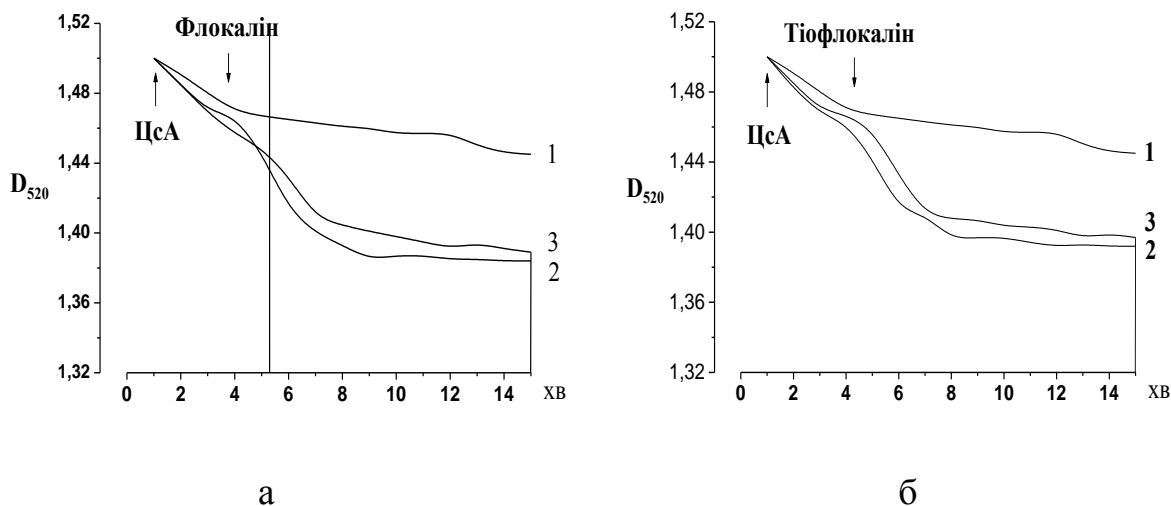


Рис. 3.9 Індуковане флокаліном-С (10 мкмоль/л) (а) та тіофлокаліном (0,1 мкмоль/л) (б) набухання мітохондрій серця щурів за дії інгібітора МП циклоспорина А (10 мкмоль/л): 1– контроль; 2 – дія активаторів K_{ATP} -каналів ; 3 – преінкубація з ЦсА та дія активаторів K_{ATP} -каналів

Пряме вимірювання калієвого транспорту в мітохондріях серця і печінки щурів підтвердило припущення про відкривання міто- K_{ATP} -каналу флокаліном [321, 98]. За допомогою калій-селективного електроду була визначена швидкість ДНФ-індукованого виходу калію з мітохондрій. Слід зауважити, що даний метод дозволяє реєструвати оборотну роботу міто- K_{ATP} -каналу, що відбувається внаслідок різкого зниження мембранного потенціалу мітохондрій при додаванні роз'єднувача окисного фосфорилування. Це дає можливість визначати роботу каналу незалежно від енергетичного стану мітохондрій, яке, як було виявлено, змінюється під дією флокаліну. Таким чином, вихід іонів калію в цьому випадку відбувається по концентраційному градієнту (в середовищі інкубації іони калію відсутні) і незалежно від присутності субстрату дихання, та блокується 1-2 ммоль/л АТФ. Попередньо ми показали, що пре-інкубація мітохондрій з флокалін в концентраціях до 60 мкМ не впливає на вміст іонів калію в цих органелах за час

проведення експерименту, тобто він не викликав виходу іонів калію з мітохондрій у відсутності роз'єднувача. Як видно з рис. 3.10, флокалін в мікромольних концентраціях (7 - 30 мкм) дозозалежно підвищує швидкість ДНФ-індукованого виходу іонів калію з мітохондрій як серця (а), так і печінки (б) щурів. Ці дослідження підтвердили попередні дані, що флокалін здатний активувати АТФ-чутливий транспорт калію в мітохондріях [98, 321].

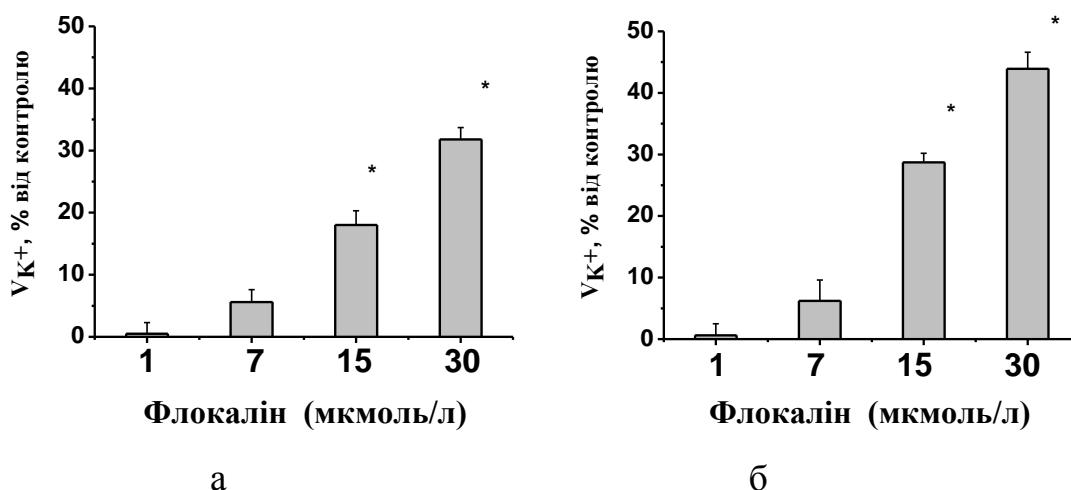


Рис. 3.10 Дозозалежний ДНФ-індукований вихід іонів калію з мітохондрій серця (а) і печінки (б) щурів за дії флокаліну; * $P < 0,05$ – порівняно з контролем.

Таким чином, вперше показано, що нові фармакологічні вітчизняні активатори $K_{\text{АТФ}}$ -каналів флокалін та тіофлокалін можуть відкривати ці канали не тільки в сарколемальній мембрані клітин, а і канали, що розташовані у внутрішній мембрані мітохондрій [72, 98, 321, 489].

3.2. Вплив активації SUR-рецепторів на показники кардіогемодинаміки

3.2.1. Вплив активації SUR-рецепторів на тонус судин та функцію серця в експериментах *in vitro*.

Вазодилаторні ефекти ДіазоФп та ДіазоФм.

Встановлено, що ДіазоФп та ДіазоФм в концентрації 1-100 мкмоль/л дозозалежно розслаблюють кільцеві препарати аорти, попередньо скорочені норадреналіном (10 мкмоль/л) (рис. 3.11, а) [40, 46, 50, 52].

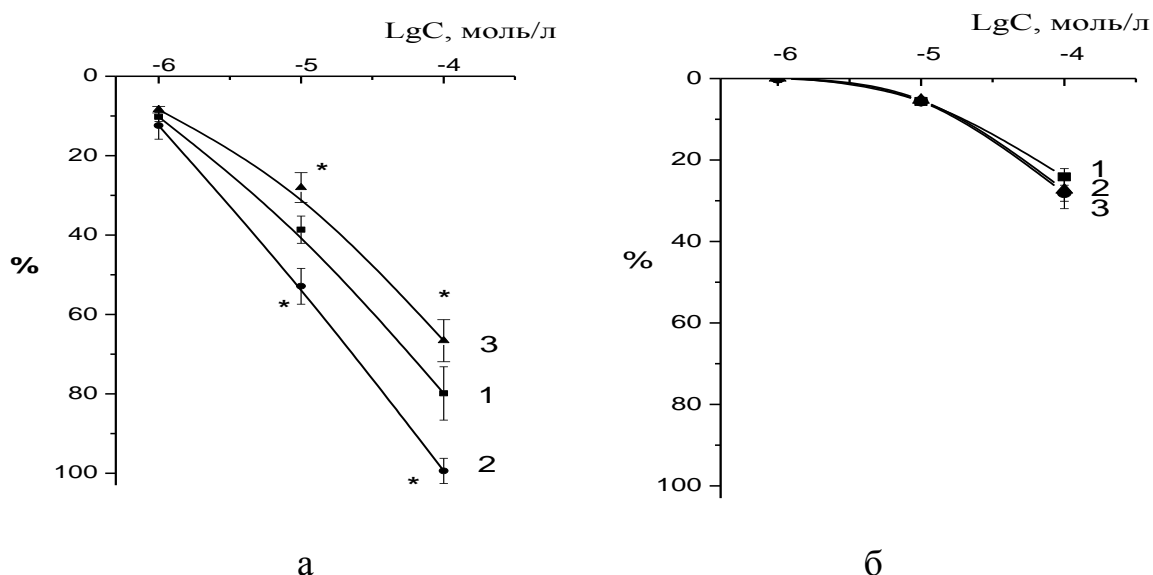


Рис. 3.11 Залежність величини реакцій ізольованих препаратів аорти від діючої концентрації діазоксиду (1), ДіазоФп (2) та ДіазоФм (3) на фоні норадреналінової (а) та гіперкалієвої (б) деполяризації. По осі ординат: розслаблення судинних смужок (у %); по осі абсцис: логарифм концентрації активаторів SUR-рецепторів K_{ATP} -каналів (LgC, моль/л); * $P < 0,05$ порівняно з ефектами діазоксиду

При найменшій використаній концентрації (1 мкмоль/л) їх вазодилаторні ефекти майже не відрізняються між собою. При збільшенні дози (10 та 100 мкмоль/л) ДіазоФп розслаблює судинні препарати на $52,90 \pm 4,51$ ($P < 0,001$, $n=10$) та $99,40 \% \pm 3,19 \%$ ($P < 0,001$, $n=6$) від вихідного рівня, відповідно, тоді як ДіазоФм лише на $28,03 \pm 3,76$ ($P < 0,001$, $n=14$) та $66,60 \% \pm 5,31 \%$ ($P < 0,001$, $n=10$). Водночас діазоксид розслаблював кільцеві препарати аорти на $38,64 \pm 3,43$ ($P < 0,001$, $n=16$) та $79,89 \% \pm 6,70 \%$ ($P < 0,001$, $n=8$) від вихідного рівня, відповідно. Отже, ДіазоФп виявляв вазодилаторні властивості сильніші у 1,37 ($P < 0,05$) та 1,24 ($P < 0,05$) рази порівняно з ефектів діазоксиду та у 1,89 ($P < 0,001$) та 1,49 ($P < 0,05$) рази порівняно з ефектів ДіазоФм за концентрації 10 та 100 мкмоль/л відповідно. Відомо, що діазоксид зумовлює дозо-залежне, ендотелій-незалежне розслаблення препаратів аорти, попередньо скорочених ангіотензином, норадреналіном та низькими концентраціями KCl [113, 386, 387, 427].

Активатори SUR-рецепторів K_{ATP} -каналів переважно мають незначний

вплив на деполяризацію мембрани, зумовлену підвищеною концентрацією іонів калію ($>30\text{--}35$ мкмоль/л K^+), що пов'язано із затрудненням пасивного виходу останнього з клітини [427]. В наших експериментах вазодилаторні ефекти всіх трьох форм діазоксиду на фоні калієвої деполяризації (КД) ($\text{K}^+=90$ ммоль/л) були значно менші ніж на фоні норадреналінової вазоконстрикції (НВ) (рис. 3.11), що дозволяє зробити припущення що до калієвої природи даної вазодилатації. Лише при найбільшій концентрації (100мкмоль/л) ДіазоФп та ДіазоФм розслаблювали судинні препарати у середньому на $28,15 \pm 3,79$ ($P<0,001$, $n=12$) та $27,35\% \pm 2,78\%$ ($P<0,001$, $n=18$) від вихідного рівня відповідно, що в 3,5 ($P<0,001$) та 2,4 ($P<0,001$) рази менше ніж на фоні НВ [46, 50].

З метою ідентифікації механізму дії ДіазоФп та ДіазоФм щодо K_{ATF} -каналів, використали інгібітор цих каналів – Гбк [429], який діючи на SUR блокує ці канали, що є одним із тестів нових фармакологічних сполук до відкривачів цих каналів [428]. Встановлено, що введення Гбк значно зменшувало вазодилаторні ефекти ДіазоФп та ДіазоФм (рис. 3.12, а).

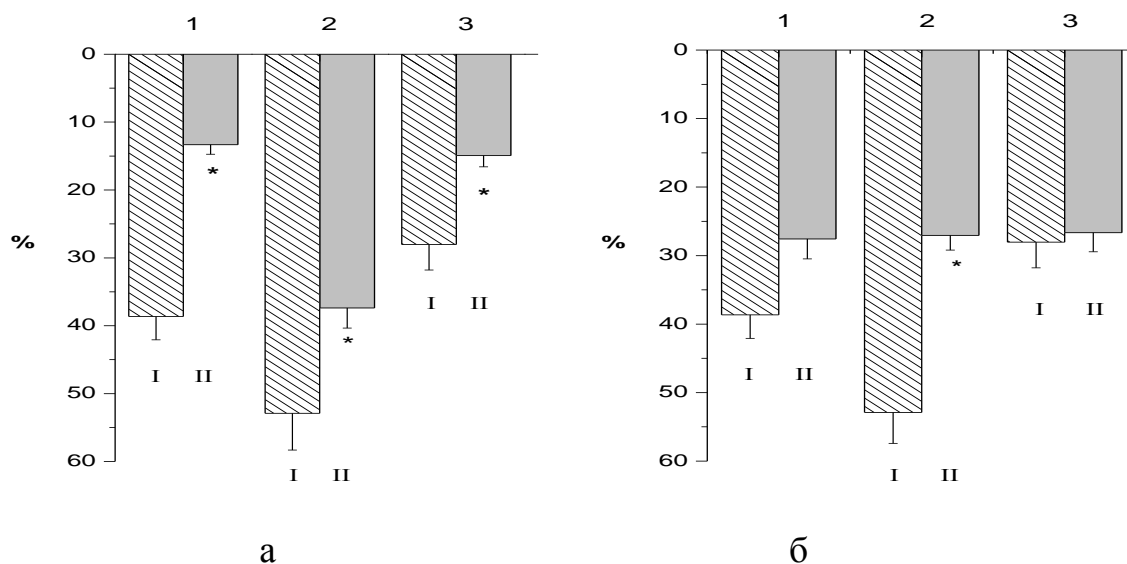


Рис. 3.12 Зміна вазодилаторних ефектів діазоксиду (1), ДіазоФп (2) та ДіазоФм (3) (для всіх 10мкмоль/л) до (I) і після (II) блокади SUR-рецепторів K_{ATF} -каналів Гбк (10 мкмоль/л) (а) та міто- K_{ATF} -каналів 5-ГД (200 мкмоль/л) (б) на фоні норадреналінової вазоконстрикції. По осі ординат: розслаблення судинних смужок (у %); * $P<0,05$ порівняно зі значеннями у контролі (I).

Розслаблення судинних препаратів становило $37,38 \pm 2,95$ ($P < 0,001$, $n=8$) та $14,93 \% \pm 1,66 \%$ ($P < 0,001$, $n=8$ відповідно, що менше порівняно з контролем у 1,4 ($P < 0,05$) та 1,9 ($P < 0,05$) рази. Отже, Гбк блокував їх ефекти на 29,32 ($P < 0,05$) та 46,7 % ($p < 0,05$) відповідно. Таким чином, отримані результати можуть свідчити, що вазодилаторні ефекти ДіазоФп та ДіазоФм відбуваються, принаймні частково, внаслідок активації SUR-рецепторів K_{ATP} -каналів. Водночас ефекти діазоксиду були зниженими на 63,59 % ($P < 0,05$), (рис. 3.12, а) [46, 50].

Вперше показано, що вазодилаторні ефекти трьох форм діазоксиду були практично однаковими за блокади міто- K_{ATP} -каналів 5-ГД, та становили $27,05 \pm 2,15$ ($P < 0,001$, $n=6$), $26,65 \pm 2,79$ ($P < 0,001$, $n=7$) та $27,57 \% \pm 2,89 \%$ ($P < 0,001$, $n=9$) для ДіазоФп, ДіазоФм та діазоксиду відповідно, тоді як в контрольних експериментах їх вазодилаторні ефекти суттєво відрізнялися між собою (рис. 3.12, б). Таким чином, блокування міто- K_{ATP} -каналів СГМК зменшує вазодилаторні ефекти ДіазоФп та діазоксиду, що може свідчити по-перше, про спорідненість цих активаторів до міто- K_{ATP} -каналів, по-друге, про певний внесок цих каналів в реакції судин. Крім того, практично однакові ефекти всіх трьох форм діазоксиду на фоні попереднього використання 5-ГД дозволяють нам вважати, що вони, можливо, в рівній мірі активують саме сарко- K_{ATP} -канали, а всі відмінності їх вазодилаторних ефектів залежать від їх спорідненості до міто- K_{ATP} -каналів. Отже, найбільш ефективним активатором останніх у СГМК аорти щурів можна вважати ДіазоФп, який має найбільший вазодилаторний ефект та його пригнічення 5-ГД. І, навпаки, найменше розслаблення смужок за ДіазоФм може свідчити про його низьку спорідненість до міто- K_{ATP} -каналів (рис. 3.12 б).

Отже, всі форми діазоксиду в концентрації 1-100 мкмоль дозозалежно розслаблюють ізольовані препарати аорти, з яких ДіазоФп має найбільш потужні вазодилаторні ефекти. Блокатори K_{ATP} -каналів – Гбк та селективний інгібітор міто- K_{ATP} -каналів – 5-ГД пригнічують (крім ефектів ДіазоФм останнім) їх вазодилаторну дію, що може свідчити про участь у розслабленні судинних клітин як міто- так і сарко- K_{ATP} -каналів. Вперше показано, що відкривання міто- K_{ATP} -каналів СГМК аорти щурів призводить до їх розслаблення [40, 46, 50, 52].

Вазодилататорні ефекти флокаліну in vitro за експериментального цукрового діабету.

При довготривалому ЦД зменшується здатність K_{ATP} -каналів розширювати судини за гіпоксії [374] та у відповідь на фармакологічні активатори [145, 348, 481], що зумовлює збільшення чутливості тканини до ішемічного ушкодження. Порушення чутливості та/або активності K_{ATP} -каналів може вважатися одним з патогенетичних механізмів розвитку артеріальної гіпертензії у хворих на ЦД [307]. Як експериментальні, так і клінічні дослідження переконливо свідчать про зміни реактивності артеріальних судин при різних видах ЦД. Встановлено, що у хворих на ЦД I типу із судинними ускладненнями та у щурів із стрептозотоцин-індукованим ЦД (модель інсулінзалежного ЦД) значно зростає активність ангіотензин-перетворюючого ферменту [260], змінюється реактивність судин до ендотеліну-1 [373, 542], серотоніну [153, 374, 405, 470], ангіотензину II [156, 266, 359], кальцитонін-ген-розслаблюючого пептиду та норадреналіну [470].

В цьому підрозділі представлено результати що до вазодилататорних ефектів флокаліну за різного характеру підвищення судинного тону у тварин із експериментальним стрептозотоцин-індукованим ЦД [75].

В серії експериментів на фоні калієвої деполяризації ($K^+=90$ ммоль/л) в обох групах тварин – діабетичній та контрольній, флокалін викликав дозо-залежне розслаблення ізольованих кільцевих смужок аорти щурів (рис. 3.13).

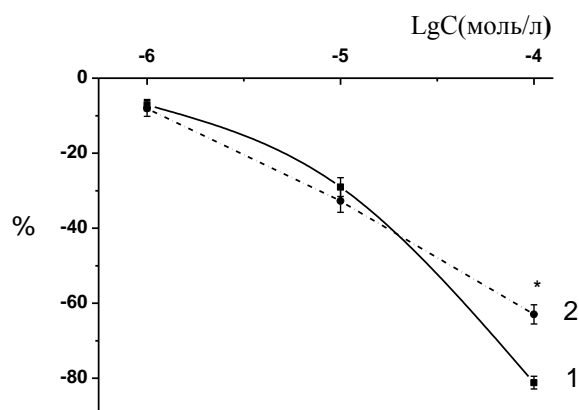


Рис. 3.13 Залежність вазодилататорних реакцій ізольованих препаратів аорти щурів від дози флокаліну на фоні гіперкалієвої деполяризації в аорті нормальних (1) та діабетичних (2) щурів; * $P<0,0002$ порівняно з контролем.

Проте якщо при невеликих дозах (10 мкмоль/л і менше) інтенсивність вазодилатації в обох групах тварин практично не відрізнялася, то при їх збільшенні спостерігається суттєве зменшення його ефектів у хворих тварин. За концентрації 100 мкмоль/л вазодилаторні ефекти у останніх становили $62,94 \pm 2,56$ ($P < 0,0001$, $n=9$) від вихідного рівня, що було значно меншим ніж у контролі ($81,17 \% \pm 1,7 \%$ ($P < 0,001$, $n=12$)), а саме на 22,46 % (рис. 3.13 та 3.14). Достовірність ефектів між групами $P < 0,0002$ [75].

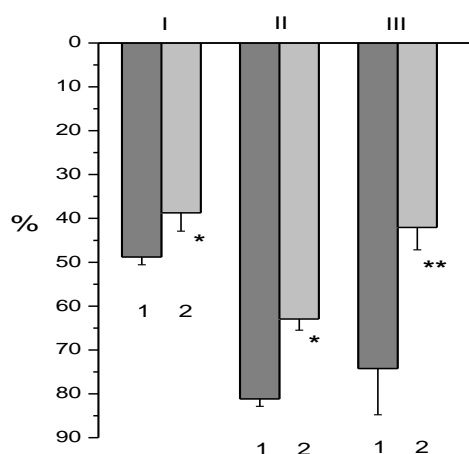


Рис. 3.14 Залежність величини вазодилаторних ефектів спричинених активацією SUR-рецепторів K_{ATP} -каналів за допомогою флокаліну (0,1ммоль/л) від типу попередньої вазоконстрикції в аорті нормальних (1) та діабетичних (2) щурів; I – ангіотензин II + флокалін, II – гіперкалієвий розчин Кребса + флокалін, III – норадреналін + флокалін, * $P < 0,0002$, ** $P < 0,007$ порівняно з контролем (нормальні щури), $P_{I(1),II(1)} < 0,001$, $P_{I(2),II(2)} < 0,0002$, $P_{II(2),III(2)} < 0,003$

Вазодилаторні ефекти індуковані активацією SUR-рецепторів K_{ATP} -каналів на фоні НВ нормальних та діабетичних тварин становив у $74,22 \pm 10,56$ ($P < 0,003$, $n=7$) та $42,05\% \pm 5,1\%$ ($P < 0,0001$, $n=11$) відповідно (рис. 3.14). Тобто у тварин з ЦД ефекти флокаліну-С порівняно з контролем зменшувалися у 1,77 раза. Ці дані практично співпадають з даними Mahmoudian et al [355], який досліджував “інгібіторний вплив” активатора K_{ATP} -каналів – діазоксиду на вазоконстрикторні ефекти норадреналіну при стрептозоциновому ЦД. По його даним, ефекти діазоксиду складала 48,22% у нормальних та 26,96% у діабетичних тварин, тобто

у хворих тварин ефекти діазоксиду порівняно з контролем зменшувалися у 1,79 раза, що практично співпадає з нашими результатами.

Суттєво зменшеними порівняно з контролем виявилися ефекти флокаліну-С (0,1ммоль/л) при ЦД на фоні ангіотензинової вазоконстрикції (АВ). Вони становили $38,74 \pm 4,15$ ($P < 0,0001$, $n=15$) порівняно з $48,8\% \pm 1,76\%$ ($P < 0,001$, $n=10$) у нормальних тварин, тобто за ЦД чутливість SUR-рецепторів $K_{ATФ}$ -каналів була зменшена у 1,26 раза (рис. 3.14) [75].

Вірогідно, що чутливість SUR-рецепторів $K_{ATФ}$ -каналів до фармакологічних активаторів (ФА) залежить від стадії розвитку ЦД. На ранніх стадіях чутливість цих каналів може збільшуватися, зокрема в великих коронарних артеріях собак [319] та артеріолах нирок щурів [285] та залишатися незмінною – в малих коронарних артеріях собак [319]. При довготривалому діабеті чутливість SUR-рецепторів $K_{ATФ}$ -каналів до їх активаторів, навпаки, зменшувалася або не змінювалася (в аорті, мезентеріальних та церебральних артеріях щурів) [146, 228, 348, 481]. За Sobey et al [481] ці зміни можуть обумовлюватися зменшенням кількості судинних $K_{ATФ}$ -каналів чи зменшенням їх чутливості до ФА, адже комплекс патогенних факторів за ЦД може обумовлювати необхідність постійної активації вищезгаданих каналів. За Zimmermann et al [578] зменшення відповіді $K_{ATФ}$ -каналів до ФА може бути частково NO-залежною. Це здається цілком ймовірним, адже відомо, що окремі активатори цих каналів розслаблюють судини не тільки через СГМК, але і через $K_{ATФ}$ -канали ендотеліальних клітин, активація котрих збільшує звільнення молекул NO [314, 330, 354], що призводить до посилення вазодилатації. Однак, розвиток ендотеліальної дисфункції при ЦД може пригальмовувати цей ефект [511, 578]. Водночас зменшення вазодилаторних ефектів активаторів $K_{ATФ}$ -каналів при ЦД може бути NO-незалежним – про що свідчать їх однакові ефекти в експериментах зі зруйнованим та цілісним ендотеліальним шаром судин [481].

Таким чином, вперше показано, що у діабетичних щурів вазодилаторні ефекти за значних доз флокаліну є дещо послабленими та залежать від природи початкового підвищення судинного тону [75].

Зміна перфузійного тиску в коронарних судинах ізольованого серця за дії флокаліну, ДіазоФп та ДіазоФм.

В експериментах на ізольованих, перфузованих по Лангендорфу серцях самців щурів та морської свинки нові активатори SUR-рецепторів вищезгаданих каналів – флокалін, ДіазоФп та ДіазоФм – використовували в дозах від 1 до 100 мкмоль/л. Показано, що всі вони дозозалежним чином зменшують перфузійний тиск в коронарних судинах (КПТ), (рис. 3.15) [53, 54, 71, 424].

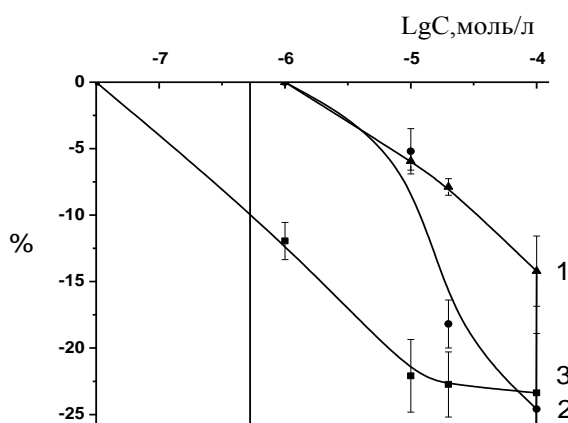


Рис. 3.15 Залежність перфузійного тиску в коронарних судинах ізольованого серця від діючої концентрації ДіазоФм (1), ДіазоФп (2) та флокаліну (3); $P < 0,05$ порівняно з вихідними даними.

Максимальні ефекти флокаліну – на $19,43 \text{ мм рт.ст.} \pm 5,65 \text{ мм рт.ст.}$ ($P < 0,008$, $n=10$) від вихідного рівня, відбувалися при концентрації 100 мкмоль/л і складала $23,38\% \pm 4,48\%$ від вихідного рівня (рис. 3.15). Це є досить близьким до отриманих нами раніше даних про вазодилаторні ефекти іншого вітчизняного фторвмісного активатора цих каналів – ПФ-10 ($22,87\%$) [82]. Проток коронарних судин при цьому практично не змінювався і складав $9,35 \pm 0,54$ порівняно з $9,15 \text{ мл/хв} \pm 0,54 \text{ мл/хв}$ ($n=12$) в контролі. Зміну КПТ в коронарних судинах при дії флокаліну-С в дозі 5 та 10 мкмоль/л відображено на рис. 3.16 та 3.17 відповідно.

Блокатор міто- K_{ATP} -каналів 5-ГД (200 мкмоль/л) дещо збільшував КПТ – на $4,3 \pm 0,46\%$ від вихідного рівня ($n=5$; $P < 0,01$) та складав $88,74 \pm 17,39$ порівняно з $84,79 \text{ мм рт.ст.} \pm 16,42 \text{ мм рт.ст.}$ у контролі (рис. 3.17). 5-ти хвилинна інфузія

флокаліну (10 мкмоль/л) на фоні блокади міто- K_{ATP} -каналів (5-ГД, 200 мкмоль/л) знижувала КПТ від вихідного рівня на $24,34\% \pm 1,97\%$ ($n=5$; $P<0,01$, рис. 3.17) до $64,47 \pm 15,12$ порівняно з $84,79$ мм рт.ст. $\pm 16,42$ мм рт.ст. у контролі.

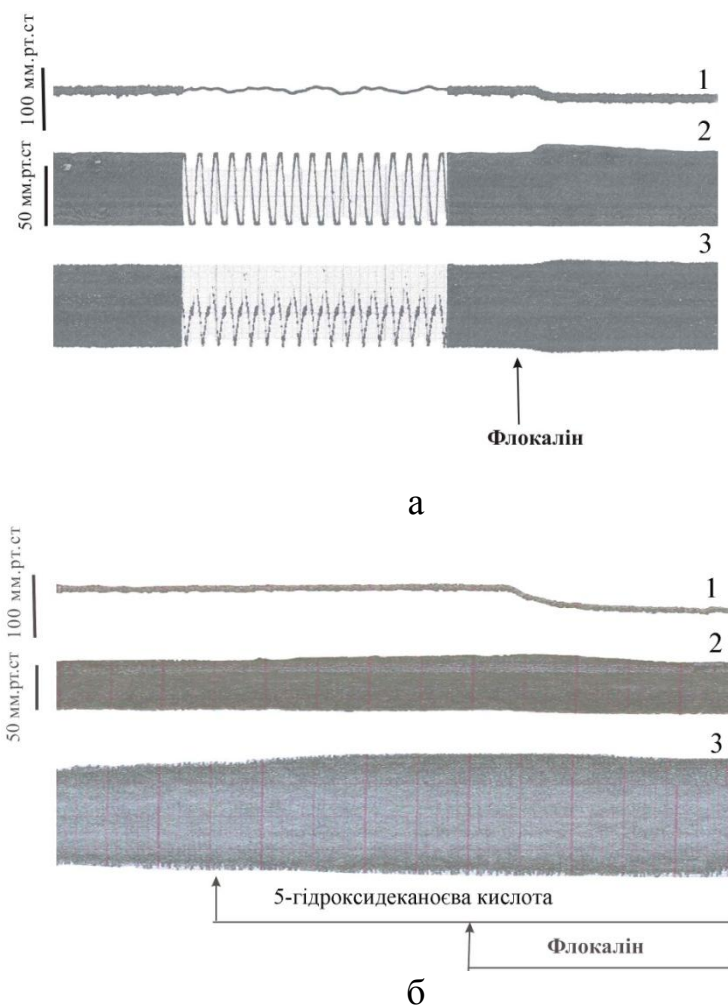


Рис. 3.16 Вплив модуляції активності SUR-рецепторів K_{ATP} -каналів (а – активація рецептору, б – введення інгібітора каналу з наступним введенням активатора) на функціонування серця; 1 – перфузійний тиск в коронарних судинах; 2 – тиск в лівому шлуночку та 3 – його перша похідна (dP/dt)

Порівняння ефектів флокаліну-С з блокадою та без блокади міто- K_{ATP} -каналів (24,34 порівняно з 22,09% відповідно) дозволяє припустити, що його вазодилаторні ефекти в коронарних судинах відбуваються безпосередньо завдяки активуванню SUR-рецепторів K_{ATP} -каналів сарколемальної мембрани.

Подібно до субстанції флокаліну перфузія ізольованого за Лангендорфом серця морських свинок флокаліном-Л (таблетки) в дозі 5 мкмоль/л протягом 5хв

за умов нормоксії розширює коронарні судини (на $10,8 \% \pm 0,89 \%$ від вихідного рівня ($P < 0,001$, $n=11$)) та підвищує протік у них (табл. 3.1) [87].

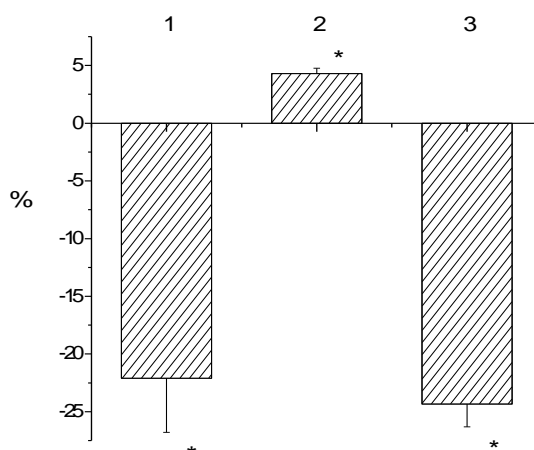


Рис. 3.17 Зміна перфузійного коронарного тиску при дії модуляторів активності SUR-рецепторів K_{ATP} -каналів; 1 – флекалін-С (10 мкмоль/л), 2 – 5-ГД (200 мкмоль/л), 3 – флекалін-С на фоні 5-ГД; * $P < 0,05$ порівняно з вихідними даними.

Таблиця 3.1

Вплив активація SUR-рецепторів K_{ATP} -каналів флекаліном-Л (5 мкмоль/л) на перфузійний тиск в коронарних судинах та коронарний протік в ізольованому та перфузованому за Лангендорфом серці морської свинки ($n=11$, $M \pm m$), у дужках вказано зміни у %.

Показник	Вихідне значення	За відкриття K_{ATP} -каналів
Коронарний перфузійний тиск, мм рт.ст.	$59,93 \pm 5,54$	$55,36 \pm 4,45$ (– 10,8 % *)
Коронарний протік, мл хв ⁻¹	$12,07 \pm 0,24$	$12,26 \pm 0,23$ (+ 3,05 % *)

Примітка. * $P < 0,05$ – вірогідність порівняно з вихідними значеннями

При введенні в перфузуючий ізольоване серце розчин ДіазоФп та ДіазоФм в концентрації 1 мкмоль/л КППТ практично не змінювався [53, 54, 424]. Проте підвищення їх дози призводило до дозо-залежного зниження цього показника (рис. 3.15). За 10 мкмоль/л вони викликали практично однакове зменшення – на

$5,14 \pm 1,71$ ($P < 0,05$, $n=8$) та $5,94 \% \pm 0,68 \%$ ($P < 0,05$, $n=8$) відповідно. При подальшому збільшенні, ефекти ДіазоФп були потужнішими, ніж у ДіазоФм. Зокрема, при 100 мкмоль/л у 1,73 раза ($P < 0,05$) та складали $24,6 \pm 1,9$ ($n=8$, $P < 0,05$) порівняно з $14,22 \% \pm 2,64 \%$ ($n=8$, $P < 0,05$) у останнього. Що відповідало їх ефектам на попередньо скорочених норадреналіном ізольованих препаратах аорти (див. пункт 3.3.1).

Таким чином, в експериментах *in vitro* на ізольованих смужках аорти та серці (за Лангендорфом) щурів і морських свинок показано, що нові вітчизняні активатори K_{ATP} -каналів (флокалін, ДіазоФп та ДіазоФм) є потужними вазодилаторами, які дозо-залежним чином розслаблюють як аорту, так і коронарні судини. Показано, що активація міто- K_{ATP} -каналів аорти щура спричиняє її дилатацію, що свідчить про участь цих каналів у вазодилаторних реакціях аорти. Водночас дилатація коронарних судин зумовлена, насамперед, активацією сарко- K_{ATP} -каналів [46, 50, 53, 54, 71, 75, 424].

Зміна скоротливої активності міокарда ізольованого серця за дії нових фторвмісних активаторів SUR-рецепторів K_{ATP} -каналів.

В експериментах на ізольованих, перфузованих за Лангендорфом серцях самців щурів та морських свинок показано, що нові фторвмісні активатори SUR-рецепторів K_{ATP} -каналів мають різні ефекти на скоротливу функцію міокарда [53, 54, 71, 83, 87, 424]. ДіазоФм, ДіазоФп та діазоксид (концентрації 10, 30, 100 мкмоль/л) мають тенденцію до зменшення систоличного тиску у лівому шлуночку (ТЛШ) та dP/dt_{max} та dP/dt_{min} (табл. 3.2). ДіазоФм зменшував ТЛШ на 15,51, 7,44 та 11,8 % від вихідного рівня при концентрації 10, 30 та 100 мкмоль/л відповідно. ДіазоФп – на 17,22, 5,31 та 2,31 %, діазоксид на 18,5, 10,9 та 8,0 % відповідно. Аналогічним чином змінювалася і перша похідна цього тиску – dP/dt , що відображує швидкість скорочення (швидкість збільшення тиску) та розслаблення (зменшення тиску) міокарда. Слід зауважити, що відсутність дозозалежності цих реакцій була нами показана раніше для іншого вітчизняного відкривача K_{ATP} -каналів – ПФ-10 [82]. Проте на відміну від діазоксиду та його аналогів, він

підвищував скоротливу активність міокарда. Водночас вперше показано, що флокалін-С (рис. 3.16 і 3.18) практично не впливає на ТЛШ міокарда (підвищення на $1,43 \% \pm 3,55 \%$ ($n=18$)), а флокалін-Л (табл. 3.3) має тенденцію до його збільшення (на $9,25 \% \pm 2,42 \%$ ($n=11$)).

Таблиця 3.2

Зміна систоличного тиску в лівому шлуночку при різному рівні відкриття K_{ATP} -каналів за перфузії ізолюваного серця ДіазоФм та ДіазоФп (в мм рт. ст.).

Концентрація відкривачів K_{ATP} -каналів	ДіазоФп		ДіазоФм	
	Вихідне значення	10-та хв перфузії	Вихідне значення	10-та хв перфузії
10 мкмоль/л	$73,62 \pm 7,00$ $n=7$	$60,94 \pm 8,20$	$59,83 \pm 5,63$ $n=7$	$50,55 \pm 5,99$
30 мкмоль/л	$83,17 \pm 5,66$ $n=8$	$78,75 \pm 5,11$	$59,71 \pm 4,91$ $n=18$	$55,27 \pm 5,24$
100 мкмоль/л	$75,83 \pm 7,03$ $n=8$	$74,08 \pm 8,29$	$56,61 \pm 6,49$ $n=8$	$49,93 \pm 7,35$

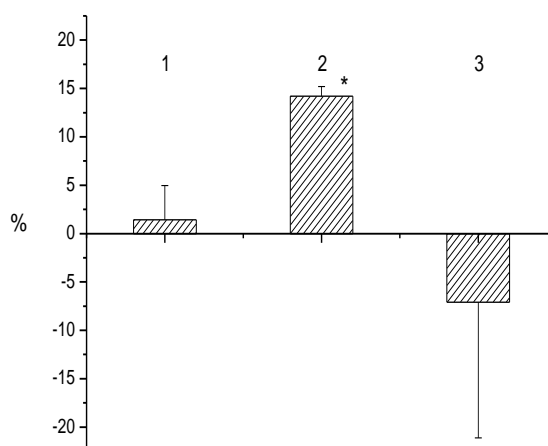


Рис. 3.18 Зміна систоличного тиску в лівому шлуночці при дії модуляторів активності K_{ATP} -каналів; 1 – флокалін-С (5 мкмоль/л), 2 – 5-ГД (200 мкмоль/л), 3 – флокалін-С на фоні 5-ГД; * $P<0,05$ порівняно з вихідними даними.

Аналогічно до ТЛШ змінювалося dP/dt . Що є подібним до отриманих нами раніше та літературних даних. Відомо, що вони практично не впливають на неї

(можливе також не достовірне зниження), чи підвищують її [82, 205, 245]. Пригнічення скоротливої діяльності міокарда спостерігається лише при досить високих дозах активаторів, коли відбувається надто сильне зменшення тривалості потенціалу дії [82, 245].

Блокатор міто- K_{ATP} -каналів – 5-ГД (200 мкмоль/л) підвищував скоротливу активність міокарда (рис. 3.17) від вихідного рівня у середньому на $14,2\% \pm 1,01\%$ ($n=5$; $P<0,05$). ТЛШ при цьому збільшувався у середньому до $75,47 \pm 19,03$ ($n=5$, $P<0,05$) порівняно з $66,25$ мм рт.ст. ± 17 мм рт.ст. ($n=9$, $P<0,05$) у контролі. 5-ти хвилинна інфузія флокаліну-С на фоні блокади каналів призводила до зниження скоротливої активності міокарда від вихідного рівня (рис. 3.18). Тобто, якщо сама блокада міто- K_{ATP} -каналів спричиняє посилення скоротливої активності міокарда, то активування K_{ATP} -каналів, принаймні флокаліном-С, при інгібуванні міто- K_{ATP} -каналів має тенденцію до її зменшення [71].

Таблиця 3.3

Вплив флокаліну-Л (5 мкмоль/л) на функцію ізольованого та перфузованого за Лангендорфом серця морської свинки ($n=11$, $M \pm m$), у дужках зміни у %.

Показник	Вихідне значення	Активация SUR-рецепторів
Систолічний тиск у лівому шлуночку серця, мм рт.ст.	$60,95 \pm 3,91$	$66,59 \pm 7,04$ (+ 9,25 %)
Тиск, що розвивається у лівому шлуночку серця, мм рт.ст.	$48,78 \pm 4,31$	$57,19 \pm 7,79$ (+ 9,62 %)
Кінцево-діастолічний тиск у лівому шлуночку серця, мм рт.ст.	$10,14 \pm 1,47$	$9,56 \pm 1,86$ (- 4,38 %)
Частота серцевих скорочень, $хв^{-1}$	$176 \pm 10,44$	$153,75 \pm 9,61$ (- 12,67 % *)
Кількість екстрасистол, $хв^{-1}$	$13,11 \pm 3,52$	$7,33 \pm 2,25$ * (-44,09 % *)

Примітка. * $P<0,05$ – порівняно з вихідними значеннями

Водночас флокалін-С знижував кінцевий діастолічний тиск (КДТ), який становив $1,96 \pm 0,64$ (n=18) порівняно з $2,65$ мм рт. ст. $\pm 0,67$ мм рт. ст. (n=9) у контролі (вихідне значення). Блокатор міто- K_{ATP} -каналів – 5-ГД також мав тенденцію до його зниження – $2,18 \pm 1,72$ (n=5), порівняно з $2,94$ мм рт. ст. $\pm 2,09$ мм рт. ст. (n=9) у контролі. При 5-ти хвилинній інфузії флокаліна-С на фоні блокади міто- K_{ATP} -каналів спостерігалася тенденція до ще більшого зниження КДТ, який приближувався до нуля (n=5) порівняно з $2,94$ мм рт. ст. $\pm 2,09$ мм рт. ст. (n=9) у контролі (рис. 3.19). Помірне зниження КДТ у лівому шлуночку також характерно для флокаліну-Л (див. табл. 3.3), тоді як при дії ДіазоФм та ДіазоФп він залишався не змінним [51, 53, 54, 71, 87, 424]. Зниження КДТ в лівому шлуночку серця сприяє кращому заповненню його кров'ю після чергового викиду та може свідчити про збільшення розтягування лівого шлуночка серця.

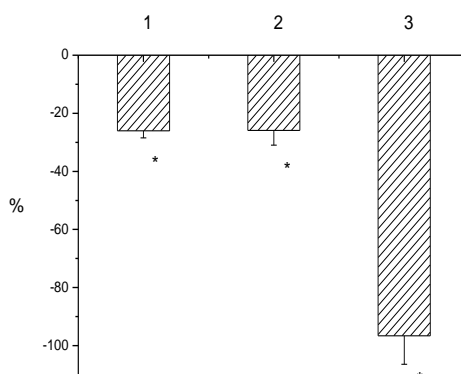


Рис. 3.19 Залежність кінцево-діастолічного тиску від зміни активності K_{ATP} -каналів; 1 – флокалін-С (5 мкмоль/л), 2 – 5-гідроксидеканоїнова кислота (200 мкмоль/л), 3 – флокалін-С на фоні 5-ГД; результати представлені в відсотках по відношенню до контрольних даних. * $P < 0,05$ порівняно з вихідними даними.

За використаних кардіопротекторних доз нові фторвмісні активатори практично не змінюють частоту серцевих скорочень (ЧСС), що підтверджують літературні дані для інших активаторів SUR-рецепторів K_{ATP} -каналів [205, 268]. Зокрема, за дії флокаліну-С ЧСС становить $138,5 \pm 4,95$ порівняно з 139 уд/хв $\pm 4,67$ уд/хв (n=12) у контролі. Винятком є флокалін-Л, за дії якого в дозі 5 мкмоль/л відбувається її зниження на $12,67\% \pm 1,01\%$ (n=11; $P < 0,05$).

Слід зауважити, що відкривання цих каналів в наших експериментах значно зменшувало кількість спонтанних порушень ритму серця. Зокрема, при введенні в перфузуючий розчин флокаліну-Л кількість екстрасистол зменшувалася майже вдвічі (див. табл. 3.3).

Отже, блокування міто- K_{ATP} -каналів за допомогою 5-ГД підвищує ТЛШ, dP/dt_{max} і dP/dt_{min} ПТК та зменшує КДТ. Цілком ймовірно, що позитивний інотропний вплив 5-ГД може бути наслідком прямого включення в окисне фосфорилування в електрон-транспортному ланцюгу мітохондрій та пов'язаного з цим посилення процесів β -окиснення [254, 256]. За літературними даними, 5-ГД дещо збільшує системний артеріальний тиск [122] та практично не змінює скоротливу активність міокарда і коронарний проток в ізольованому серці кроля [546]. Водночас інгібування міто- K_{ATP} -каналів не впливає на коронаролітичні ефекти флокаліну-С та може посилювати його вплив на КДТ.

Таким чином, вперше показано, що активація SUR-рецепторів K_{ATP} -каналів новими вітчизняними фторвмісними активаторами в кардіопротекторних та нижчих дозах (≤ 10 мкмоль/л) практично не впливає на ТЛШ та його першу похідну dP/dt , проте спостерігаються тенденції – до його збільшення (флокалін-Л) та, навпаки, зменшення (ДіазоФм та ДіазоФп). Що вірогідно пов'язане з їх відмінністю по молекулярній будові (див. підрозділ 2.14 та [204]) та місцем взаємодії з SUR-рецептором. Аналоги діазоксиду є більш специфічними активаторами міто- K_{ATP} -каналів, тоді як флокалін добре відкриває як останні так і сарко- K_{ATP} -канали. Очевидно, що від цього також залежить їх вплив на КДТ. Зокрема, флокалін-С та -Л в кардіопротекторних дозах його дещо знижують, тоді як ДіазоФм та ДіазоФп практично не впливають на його рівень. Вперше показано, що нові вітчизняні активатори у цих дозах практично не змінюють ЧСС, за виключенням флокаліну-Л [51, 53, 54, 71, 83, 87, 424].

3.2.2. Вплив активації SUR-рецепторів на кардіогемодинаміку в експериментах *in vivo*

Зміну показників кардіогемодинаміки за активації K_{ATP} -каналів в

експериментах *in vivo* досліджували на анестезованих собаках ($n=7$) за допомогою внутрішньовенного введення субстанції флокаліну в дозах від 0,01 до 1,5 мг/кг [27, 37, 69, 76, 77, 490, 495, 497, 498].

Вперше показано, що його інфузія дозозалежним чином знижує системний артеріальний тиск (САТ) та розширює коронарні судини (рис. 3.20, 3.21).

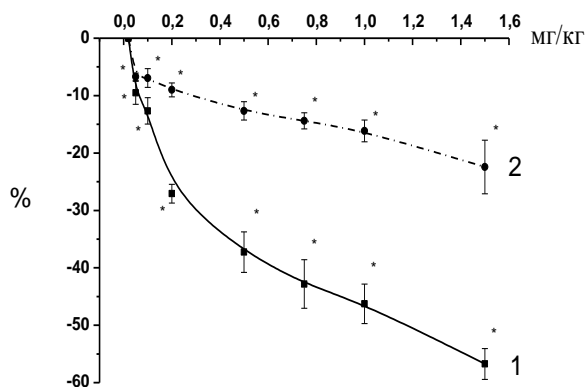


Рис. 3.20 Залежність (крива доза-ефект) САТ (1) та КПТ (2) від величини активації SUR-рецепторів (введеної дози флокаліну) в експериментах на анестезованих собаках. * $P<0,05$ порівняно з вихідним рівнем

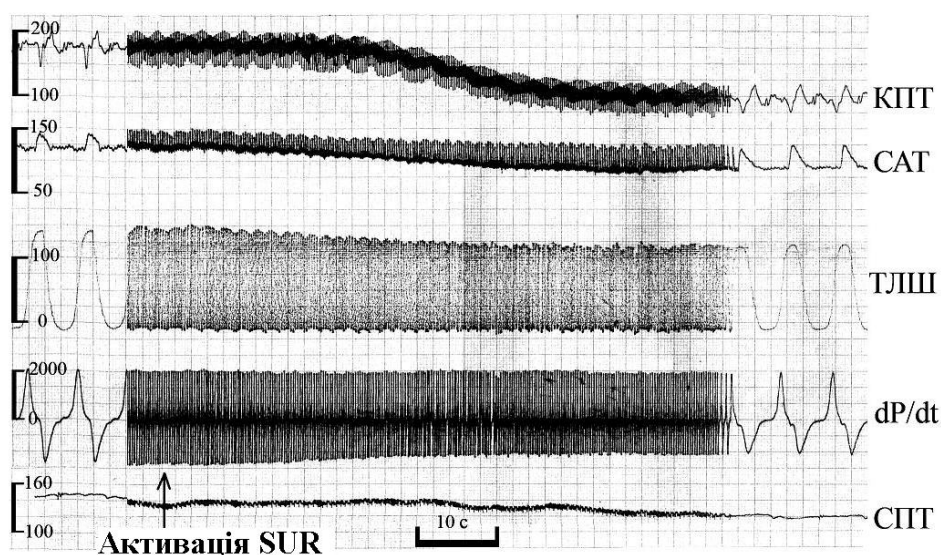


Рис. 3.21 Вплив активації SUR-рецепторів K_{ATP} -каналів флокаліном (0,2 мг/кг) на показники кардіогемодинаміки в експериментах *in vivo* на собаках. КПТ – коронарний перфузійний тиск, мм рт.ст; САТ – системний артеріальний тиск, мм рт.ст; ТЛШ – тиск у лівому шлуночку, мм рт.ст; dP/dt – перша похідна ТЛШ, мм рт.ст/сек; СПТ – перфузійний тиск у стегновій артерії, мм рт.ст.

Пороговою щодо САТ дозою флокаліну виявилася 0,05 мг/кг, при якій відбувались незначні дилататорну реакцію (тривалістю близько трьох хвилин), яка набувала вірогідних значень лише протягом першої хвилини після введення (див. табл. 3,4 та рис. 3.22) – зниження САТ від вихідного рівня у середньому на $9,52\% \pm 2,01\%$ ($n=7$, $P<0,05$). В дозі 0,5 мг/кг та вищих ефекти флокаліну були досить значними, більш ніж на $37,26\% \pm 3,53\%$ ($P<0,05$).

Таблиця 3.4

Зміна САТ (у % від вихідного рівня) при активації SUR-рецепторів за допомогою внутрішньовенного введення різних доз флокаліну в експериментах на анестезованих собаках, ($M \pm m$)

Доза флокаліну, мг/кг	Час активації SUR-рецепторів, хв									
	1	2	3	4	5	10	15	20	25	30
0,01 $n=3$	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0,02 $n=3$	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0,05 $n=7$	-9,52 $\pm 2,01^*$	-3,37 $\pm 1,42$	-3,92 $\pm 2,02$	-0,19 $\pm 0,16$	-0,06 $\pm 0,06$	0	0	0	0	0
0,1 $n=8$	-12,66 $\pm 2,31^*$	-9,81 $\pm 1,69^*$	-9,86 $\pm 3,08^*$	-9,54 $\pm 2,51^*$	-9,02 $\pm 3,29^*$	-2,29 $\pm 1,51$	-3,06 $\pm 1,75$	-2,07 $\pm 1,37$	-1,49 $\pm 1,14$	-0,76 $\pm 0,76$
0,2 $n=5$	-17,45 $\pm 2,86^*$	-27,08 $\pm 1,64^*$	-23,54 $\pm 0,95^*$	-20,8 $\pm 1,26^*$	-19,95 $\pm 1,27^*$	-8,49 $\pm 1,6^*$	-7,31 $\pm 1,3^*$	-6,31 $\pm 0,97^*$	-5,22 $\pm 0,85^*$	-2,18 $\pm 1,7$
0,5 $n=6$	-35,53 $\pm 4,35^*$	-37,26 $\pm 3,53^*$	-35,53 $\pm 4,35^*$	-28,5 $\pm 4,2^*$	-18,34 $\pm 3,32^*$	-9,44 $\pm 1,6^*$	-6,88 $\pm 1,94^*$	-5,55 $\pm 1,97$	-4,42 $\pm 2,71$	-5,02 $\pm 2,15$
0,75 $n=3$	-40,5 $\pm 0,5^*$	-42,82 $\pm 4,24^*$	-40,53 $\pm 1,53^*$	-35 $\pm 2,14^*$	-30,49 $\pm 2,37^*$	-23,63 $\pm 0,49^*$	-17,56 $\pm 1,3^*$	-12,34 $\pm 0,91^*$	-9,45 $\pm 0,95^*$	-7,1 $\pm 0,34^*$
1,0 $n=5$	-43,25 $\pm 4,3^*$	-46,28 $\pm 3,44^*$	-43,2 $\pm 2,67^*$	-38,73 $\pm 4,43^*$	-34,31 $\pm 5,61^*$	-28,97 $\pm 7,09^*$	-24,6 $\pm 7,16^*$	-18,69 $\pm 7,28^*$	-11,1 $\pm 6,27^*$	-6,45 $\pm 6,45$
1,5 $n=5$	-54,48 $\pm 3,85^*$	-56,75 $\pm 2,68^*$	-55,77 $\pm 2,84^*$	-54,84 $\pm 3,17^*$	-52,94 $\pm 5,06^*$	-36,85 $\pm 14,97^*$	-25,36 $\pm 11,6^*$	-19,97 $\pm 11,57$	-15,18 $\pm 10,53$	-13,28 $\pm 9,58$

Примітка. * $P<0,05$ порівняно з вихідним рівнем

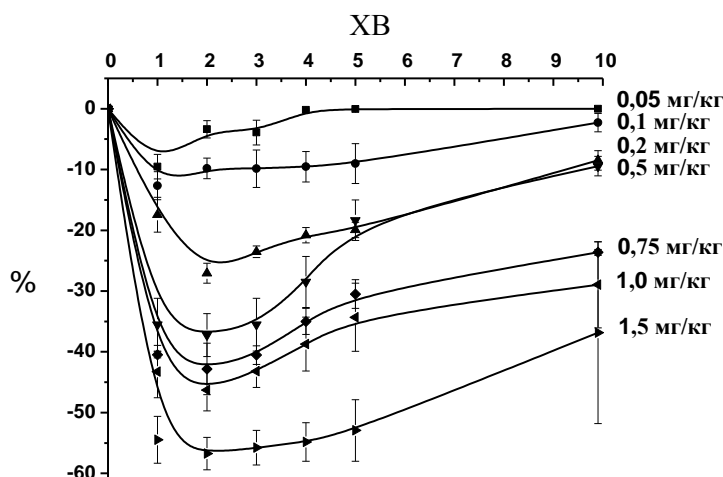


Рис. 3.22 Зміна САТ в часі при активації SUR-рецепторів за допомогою різних доз флокаліну (у % від вихідного рівня) в експериментах на анестезованих собаках, $P < 0,05$ порівняно з вихідним рівнем

А саме, при введенні 0,5; 0,75; 1,0 та 1,5 мг/кг САТ знижувався на $42,07 \pm 6,18$ (n=6, $P < 0,05$); $44,22 \pm 4,87$ (n=3, $P < 0,05$); $44,3 \pm 4,59$ (n=5, $P < 0,05$) та $66,28$ мм рт.ст. $\pm 3,15$ мм рт.ст. (n=5, $P < 0,05$) відповідно. При цьому узагальнене значення САТ у всіх експериментах у середньому складало $121,46$ мм рт. ст. $\pm 7,81$ мм рт. ст. Це може свідчити про потужність ефектів флокаліну за цих доз на судинну систему. Слід зауважити, що таке зниження артеріального тиску в відповідь на великі дози флокаліну є недовгим – близько 15 хв, по завершенні яких частково відновлювався, та був зниженим від вихідного рівня біля 25 %.

Максимальний ефект відбувався в перші три хвилини після введення, потім він починав повільно відновлюватися до вихідного рівня (табл. 3.4, рис. 3.22). Така швидкоплинність максимальних ефектів можливо пов'язана з природою та функцією цього мембранного каналу. Адже основним ендогенним регулятором його активації є внутрішньоклітинний вміст АТФ та співвідношення АТФ/АДФ, а основним наслідком їх відкривання є антиішемічний захист органа чи тканини. Що до судинної дилатації внаслідок активації цих каналів, то немає фізіологічного сенсу зменшувати судинний опір на досить тривалий період часу, адже при їх розширенні відразу збільшується локальний кровотік та поліпшується постачання кисню, що запобігає гіпоксії та розвитку ішемії.

Сила та тривалість гіпотензивного ефекту активації SUR-рецепторів чітко корелює з величиною введеної дози флокаліну – чим більша доза, тим більший рівень відкривання вищезазначених каналів та сильніший і триваліший ефект. Слід зауважити, що за 30 хвилин після введення флокаліну в відповідних до наших експериментів дозах артеріальний тиск в анестезованій собаки є зниженим практично завжди не більше ніж на 15% та практично нормалізується протягом години.

Для КПТ пороговою дозою флокаліну є 0,05 мг/кг, що відповідає незначній дилататорній реакції амплітудою $6,71 \% \pm 0,64 \%$ ($n=7$, $P<0,05$), див. рис. 3.20. З максимальним зниженням (1,5 мг/кг флокаліну) на $22,44 \% \pm 4,67 \%$ або на $28,92$ мм рт.ст. $\pm 5,46$ мм рт.ст. ($n=5$, $P<0,05$) при вихідному рівні тиску $130,29$ мм рт.ст. $\pm 5,82$ мм рт.ст. (див. рис. 3.20) [37, 498]. Ці дані добре співвідносяться з отриманими в експериментах *in vitro* на ізольованих, перфузованих за Лангендорфом серцях самців морської свинки, де максимальне зменшення КПТ становило $22,1 \% \pm 4,7 \%$ від вихідного рівня та відбувалося при концентрації 10 мкмоль/л (дивіться пунк 3.3.3). Вазодилататорні реакції коронарних судин є швидкими і досягають свого максимуму протягом 2-4 хв після внутрішньовенного введення флокаліну, що може бути досить перспективним з метою термінового зняття коронароспазмів в клініці. Слід зауважити, що ці судинні ефекти в відповідь на введення флокаліну були отримані за умов, близьких до фізіологічних, де вихідне значення САТ та КПТ становило у середньому 121,5 та 130,3 мм рт.ст. відповідно. Цілком можливо, що зменшення судинного тиску флокаліном в умовах гіпертензії повинно бути значно сильнішим. Як вже згадувалося раніше (підрозділ 1.5), при особливо важких формах артеріальної та легеневої гіпертензії, гіпертензивних кризах, резистивних до комбінованої терапії іншими гіпотензивними засобами в клініці рекомендується використання саме активаторів K_{ATP} -каналів [5, 295, 477].

Відповідно до зниження САТ при більшій дозі флокаліну – дозозалежним чином зменшувався загальнопериферичний опір (ЗПО) судин (рис. 3.23). Проте зниження хвилинного об'єму крові (ХОК, максимально при введенні дози 1,0

мг/кг – на $23,13 \pm 12,66 \%$ ($n=5$, $P<0,05$, див. рис. 3.23) дещо запобігало цьому – при дозах флокаліну 0,1 та 0,5 мг/кг ЗПО майже не відрізнявся від вихідного рівня. При збільшенні дози до 1 та 1,5 мг/кг він значно зменшувався, а саме на $20,14 \pm 7,09$ та $47,17 \pm 6,45 \%$ (для обох $n=5$, $P<0,05$) відповідно.

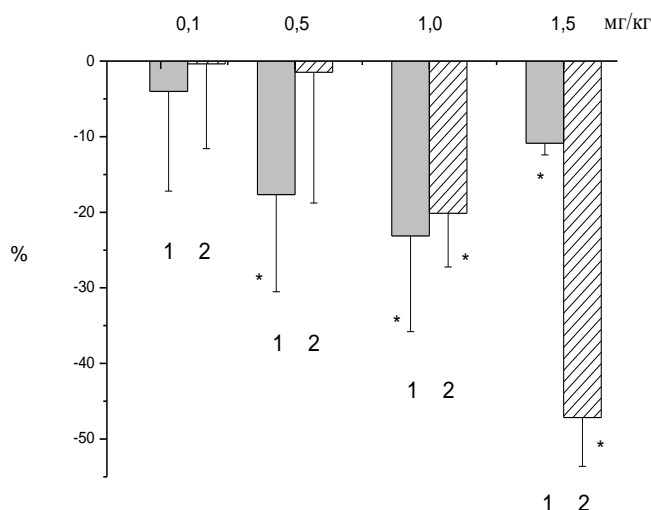


Рис. 3.23 Зміни хвилинного об'єму крові (1) та загального периферичного опору (2) при активації SUR-рецепторів за допомогою різних доз флокаліну в експериментах на анестезованих собаках (у % від вихідного рівня). * $P<0,05$ порівняно з вихідним рівнем

Дослідженні скоротливої функції серця показало, що активація SUR-рецепторів спричиняє кардіодепресорні реакції (рис. 3.21), які полягають в дозозалежному зменшенні ТЛШ, швидкості наростання (dP/dt_{\max}) та зменшення (dP/dt_{\min}) тиску в ньому (рис. 3.24 та 3.25). З максимальним зниженням на $37,07 \pm 5,06$, $51,24 \pm 9,39$ та $55,62 \pm 6,92 \%$ (для всіх $n=5$, $P<0,05$) від вихідного рівня відповідно [490].

Що, якраз можна вважати одним із захисних, пристосувальних механізмів при енергетичному дефіциті (гіпоксії, ішемії) міокарда, направлено на зменшення скоротливої активності та метаболічних процесів, що забезпечує зменшення витрат енергоресурсів (АТФ) та кисню. Компенсаторним механізмом в відповідь на гіпоксію може виступати показане вище розширення вінцевих судин та збільшення коронарного кровотоку.

Вперше показано, що при активації SUR-рецепторів флокаліном в дозах нижчих 1 мг/кг, практично не змінювалася ЧСС. Проте спостерігалася незначна тенденція до зниження – на $2,16 \pm 0,93$ (n=8) та $4,23 \% \pm 2,37 \%$ (n=6) для дози 0,1 та 0,5 мг/кг відповідно. Водночас внутрішньовенне введення 1 та 1,5 мг/кг, в перші 10 хвилин реакції спричиняє значне зменшення ЧСС, з максимумом на 2 хв – $19,15 \% \pm 1,69 \%$ (n=5, $P<0,05$) для першої та на 5 хв – $13,12 \% \pm 3,18 \%$ (n=5, $P<0,05$) для другої дози. В подальшому вона відновлюється та, за 25 хв після активації SUR-рецепторів K_{ATP} -каналів, вже практично не відрізняється від вихідного рівня [77].

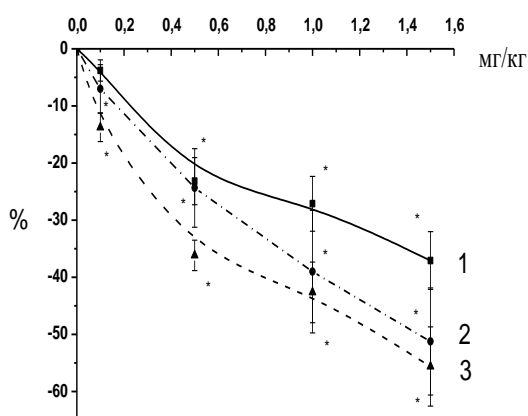
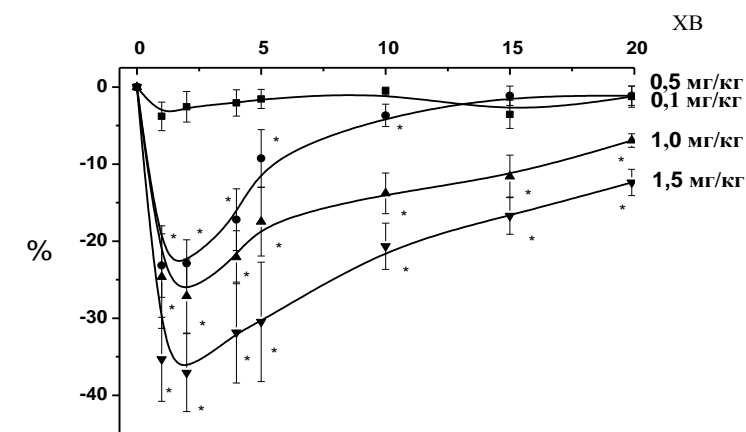
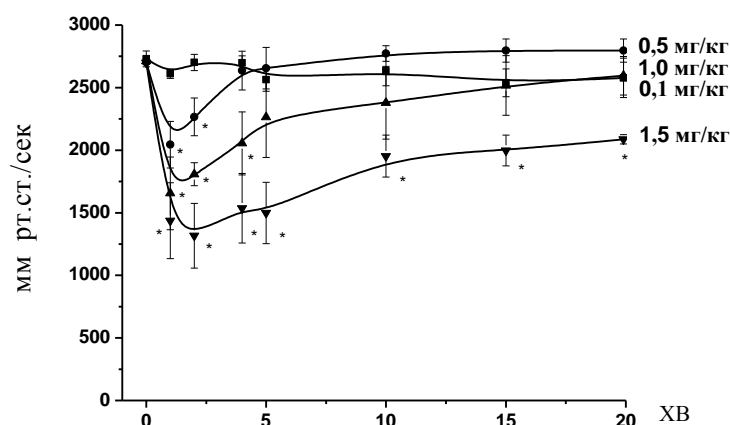


Рис.3.24 Зміни значень ТЛШ (1), швидкості скорочення (dP/dt_{max}) (2) та розслаблення (dP/dt_{min}) (3) міокарда при активації SUR-рецепторів за допомогою різних доз флокаліну в експериментах на анестезованих собаках, $*P<0,05$ порівняно з вихідним рівнем

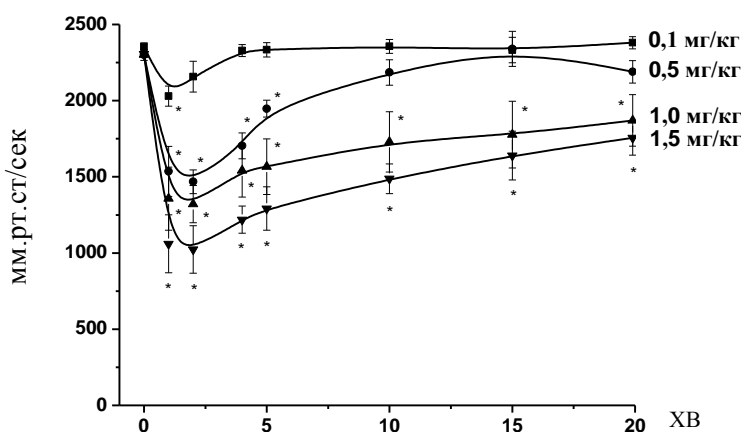
Таким чином, в експериментах на анестезованих собаках *in vivo* за умов, близьких до фізіологічних, з закритою грудною кліткою та зі збереженням природного дихання, показано, що внутрішньовенне введення флокаліну-С в дозах 0,05-1,5 мг/кг призводить до дозо-залежного зниження САТ, КПТ, ЗПО та кардіодепресорних реакцій, що проявляються в дозозалежному зменшенні ТЛШ, швидкості наростання (dP/dt_{max}) та зменшення (dP/dt_{min}) тиску в ньому, зниженні ХОК. Значне зменшення ЧСС та ЗПО відбувається лише при великих дозах флокаліну – 1 та 1,5 мг/кг [69, 77, 490, 497].



а



б



в

Рис. 3.25 Зміни тиску у лівому шлуночку (у % від вихідного рівня) (а), швидкості скорочення (dP/dt_{\max}) (б) та розслаблення (dP/dt_{\min}) (в) міокарда у часі при активації SUR-рецепторів за допомогою різних доз флокаліну в експериментах на анестезованих собаках. * $P < 0,05$ порівняно з вихідним рівнем.

Подібні зміни показників кардіогемодинаміки відбувалися при пероральному введенні різних дослідних серій таблеток флокаліну (флокаліну-Л (n=15), флокаліну-Зд (n=8) та флокаліну-З (n=15)), див. табл. 3.5-3.7) [78].

Таблиця 3.5

Зміна показників кардіогемодинаміки у собак протягом 1 години після активації SUR-рецепторів за допомогою інтрашлункового введення флокаліну-Л в дозі 2,2 мг/кг, ($M \pm m$, n=15), *P<0,05 порівняно з вихідними даними

Показник	Одиниці виміру	Вихідне значення	Час після активації SUR-рецепторів			
			15 хв	30 хв	45 хв	60 хв
КПТ	мм рт.ст	182,02 ± 11,3	176,38 ± 11,9	176,14 ± 13,94	177,5 ± 14,77	172,13 ± 15,39
	%		-3,1 *	-3,23	-2,48	-5,43 *
САТ	мм рт.ст	145,06 ± 7,04	139,2 ± 6,6	133,6 ± 7,06	134,9 ± 6,6	132,13 ± 6,39
	%		-4,04	-7,9	-7	-8,91 *
ТЛШ	мм рт.ст	172,87 ± 7,38	167,01 ± 6,08	163,07 ± 7,17	161,65 ± 6,75	158,68 ± 7,86
	%		-3,39	-5,67	-6,49	-8,21 *
dP/dt _{max}	мм рт.ст /сек	2714,21 ± 176	2673,64 ± 146,98	2538,71 ± 161,26	2502,57 ± 181,94	2466,36 ± 176,8
	%		-1,49	-6,47	-7,78	-9,13
dP/dt _{min}	мм рт.ст /сек	2331,57 ± 133,53	2265,86 ± 147,19	2156,93 ± 133,81	2152,64 ± 129,25	2184,57 ± 157,9
	%		-2,82	-7,49	-7,67	- 6,3
ХОК	літр/хв	1, 81 ± 0,34		1,68 ± 0,44		1,84 ± 0,47
	%			-7,18		1,66
ЗПО	Н·с·см ⁻⁵	6411,5 ± 648		6361,9 ± 472		5754,8 ± 548
	%			-0,77		-10,4
ЧСС	Уд/хв	177 ± 9,55	175 ± 7,84	169 ± 8,15	169,5 ± 7,09	169,5 ± 7,58
	%		-1,13	-4,52	-4,24	-4,24

Примітка. Тут та у табл. 3.6 та 3.7:

1. КПТ – коронарний перфузійний тиск, мм рт.ст

2. САТ – системний артеріальний тиск, мм рт.ст
3. ТЛШ – тиск у лівому шлуночку, мм рт.ст
4. dP/dt – перша похідна тиску у лівому шлуночку, мм рт.ст/сек
5. ХОК – хвилинний об'єм крові, літр/хв
6. ЗПО – загальний периферичний опір судин, $H \cdot \text{сек} \cdot m^{-5}$
7. ЧСС – частота серцевих скорочень $уд \times хв^{-1}$

При оптимальних для кардіопротекції рівнях активації SUR-рецепторів вплив на скоротливу функцію серця є незначним. При введенні флокаліну-Л (2,2 мг/кг, $n=15$) достовірно змінюються тільки КПТ (на 15-й хвилині зменшувався на $3,1 \pm 1,31$ та 60-й хвилині хв на $5,43 \pm 2,23$), САТ (на 60-й хвилині зменшувався на $8,91 \pm 3,44$) та ТЛШ (на 60-й хвилині зменшувався на $8,21 \% \pm 3,5 \%$), див. табл. 3.5 [78].

При активації SUR-рецепторів флокаліном-Зд (2,2 мг/кг, $n=8$) достовірним є зменшення САТ та ЗПО – на $11,28 \pm 2,1$ та $9,79 \% \pm 2,7 \%$ на 60 хв відповідно (див. табл. 3.6). При дії флокаліну-З (1,5 мг/кг, $n=5$) – зниження САТ на $17,62 \pm 2,4$ на 60 хв, зменшення ЗПО на $15,95 \pm 3,23$ та $12,41 \% \pm 1,21 \%$ на 30 та 60 хв відповідно (див. табл. 3.7). Разом з цим, слід зауважити, що практично всі показники мають тенденцію до зниження.

При потужній активації SUR-рецепторів (збільшенні дози флокаліну-З до 3,3 мг/кг) спостерігається сильніший депресорний вплив на скоротливу функцію серця (див. табл. 3.7). Суттєвого зниження зазнають ТЛШ – на $16,85 \pm 5,26$ (60 хв), швидкість збільшення (dP/dt_{\max}) та зменшення (dP/dt_{\min}) тиску у ньому – на $17,39 \pm 6,27$ та $22,34 \pm 6,82$ на 45 та 60 хв відповідно, та ЧСС – на $13,11 \% \pm 5,31 \%$ на 45 хв (для всіх: $n=5$, $P<0,05$). Значним чином зменшувався ЗПО судин – на $26,55 \% \pm 3,46 \%$ ($n=5$, $P<0,05$). На відміну від експериментів з внутрішньовенною інфузією флокаліну при пероральному введенні різних доз (1,5, 2,2 і 3,3 мг/кг) флокаліну-З (таблетки) дозо-залежності змін САТ, КПТ та ХОК не спостерігалось [92]. Що, можливо, пов'язано з фізіологічним станом тварин на час введення таблеток та швидкості їх всмоктування в травному тракті.

Таблиця 3.6

Зміна показників кардіогемодинаміки у анестезованих собак протягом 1 години після активації SUR-рецепторів за допомогою інтрашлункового введення флокаліну-3д в дозі 2,2 мг/кг, ($M \pm m$, $n=8$),

Показник	Одиниці виміру	Вихідне значення	Час після активації SUR-рецепторів			
			15 хв	30 хв	45 хв	60 хв
КПТ	мм рт.ст	175,32 $\pm 10,01$	175,83 $\pm 9,22$	171,94 $\pm 10,16$	171,24 $\pm 10,51$	167,06 $\pm 11,03$
	%		+0,29	-1,93	-2,33	-3,43
САТ	мм рт.ст	137,99 $\pm 6,53$	132,98 $\pm 5,86$	128,7 $\pm 6,35$	126,05 $\pm 6,4$	122,43 * $\pm 6,17$
	%		-3,63	-6,73	-8,65	-11,28
ТЛШ	мм рт.ст	167,5 $\pm 7,69$	165,82 $\pm 6,01$	160,49 $\pm 6,63$	160,7 $\pm 6,34$	157,1 $\pm 6,69$
	%		-1	-4,19	-4,06	-6,19
dP/dt _{max}	мм рт.ст /сек	2732,5 $\pm 127,44$	2754,3 $\pm 110,04$	2662,1 $\pm 133,44$	2584,3 $\pm 132,8$	2505,9 $\pm 138,3$
	%		-0,81	-2,58	-5,42	-8,29
dP/dt _{min}	мм рт.ст /сек	2347,17 $\pm 101,44$	2350,3 $\pm 104,81$	2320,3 $\pm 117,15$	2275,6 $\pm 102,87$	2269,3 $\pm 130,15$
	%		+0,13	-1,14	-3,05	-3,32
ХОК	літр/хв	1,82 $\pm 0,25$		1,75 $\pm 0,3$		1,79 $\pm 0,3$
	%			-3,85		-1,65
ЗПО	Н·с·м ⁻⁵	6065,5 $\pm 522,4$		5883,4 $\pm 484,8$		5471,7 * $\pm 410,2$
	%			-2,99		-9,79
ЧСС	Уд/хв	181,67 $\pm 9,21$	174,47 $\pm 6,72$	172,07 $\pm 6,51$	170,73 $\pm 5,83$	169,8 $\pm 5,51$
	%		-3,96	-5,28	-6,02	-6,53

Примітка. Позначення такі ж, як у таблиці 3.5

Таблиця 3.7

Зміна показників кардіогемодинаміки у анестезованих собак протягом 1 години після активації SUR-рецепторів за допомогою інтрашлункового введення флокаліну-3 в дозі 1,5 (n=6), 2,2 (n=7) та 3,3 (n=5) мг/кг; (M±m)

Показник	Доза флокаліну, мг/кг	Вихідне значення	Час після активації SUR-рецепторів			
			15	30	45	60
КПТ, мм рт.ст	1,5	171,74 ±15,34	170,3 ±16,26	169,26 ±13,94	164,74 ±12,88	163,5 ±12,45
	2,2	190,22 ±10,57	183,1 ±10,47	184,02 ±11,823	185,84 ±12,63	181,26 ±13,04
	3,3	161,5 ±7,46	166 ±6,63	159 ±7,05	160,3 ±8,33	158 ±12,41
САТ, мм рт.ст	1,5	128,85 ±16,53	119,78 ±16,96	125,45 ±15,65	111,6 ±10,73	106,15 * ±7,28
	2,2	141,06 ±6,88	138,59 ±6,30	135,34 ±6,93	129,07 ±7,32	125,25 ±7,23
	3,3	161,75 ±15,21	146 ±17,69	133,3 ±21,03	135 * ±20,7	134,3 * ±20,4
ТЛШ, мм рт.ст	1,5	156,6 ±13,5	155 ±12,4	161,2 ±12,7	153,6 ±12,6	147,7 ±13,6
	2,2	168,04 ±9,63	170,71 ±7,41	167,69 ±7,79	168,31 ±7,33	163,72 ±8,031
	3,3	178 ±8,55	159,5 ±9,37	149,25 ±11,98	150 ±10,98	148 * ±12,77
dP/dt _{max} , мм рт.ст /сек	1,5	2683 ±61	2758 ±134	2824 ±55	2597 ±48	2480 ±257
	2,2	2702,2 ±136	2773,8 ±109	2781,6 ±124	2685,8 ±116	2584,6 ±127
	3,3	2875 ±402	2725 ±381	2450 ±440	2375 * ±471	2425 * ±466
dP/dt _{min} , мм рт.ст /сек	1,5	2315 ±119	2127 ±201	2360 ±119	2018 ±235	1855 ±221
	2,2	2354,9 ±92	2397 ±91	2441,8 ±103	2407,3 ±88,8	2390,6 ±131,5
	3,3	2350 ±361	2075 ±344	1925 ±344	1875 * ±256	1825 * ±280

Продовження табл. 3.7

Показник	Доза флокаліну мг/кг	Вихідне значення	Дія флокаліну-3 протягом 60 хвилин			
			15	30	45	60
ЧСС, уд/хв	1,5	167,7 ±11,2	164 ±7,1	166,5 ±8,9	159,5 ±11,1	152,5 ±12,5
	2,2	185,3 ±11,4	179,3 ±8,6	176,8 ±8,1	179,6 ±8,0	177,5 ±8,0
	3,3	183 ±15,4	174 ±14,4	171 ±15,34	159 * ±7,5	164,25 ±12,6
ХОК, літр/хв	1,5	2,02 ±0,25		2,34 ±0,48		1,9 ±0,18
	2,2	1,75 ±0,26		1,69 ±0,32		1,57 ±0,25
	3,3	2,07 ±0,51		2,06 ±0,63		2,34 ±0,73
ЗПО, Н·сек·см ⁻⁵	1,5	5103 ±340		4288,9 * ±441		4469,5 * ±89
	2,2	6448,5 ±435		6406,6 ±689		6382,2 ±667
	3,3	6251,2 ±1293		5176,7 ±547		4591,5 * ±909

Примітка. Позначення такі ж, як у таблиці 3.5

Проте якщо всі реакції судин були спрямованими в бік дилатації, то зміни ХОК мали різно-спрямований характер: відбувалося як збільшення (на $15,84 \pm 8,86$ (флокалін-3, 1,5 мг/кг, 30-та хвилина) та на $13,04 \% \pm 4,60 \%$ (флокалін-3, 3,3 мг/кг, 60-та хвилина), так і зменшення (на $7,18 \pm 2,32$ (флокалін-Л, 2,2 мг/кг, 30-та хвилина) та на $10,29 \% \pm 3,21 \%$ (флокалін-3, 2,2 мг/кг, 60-та хвилина) (табл. 3.5-3.7) [78, 92].

Таким чином, вперше показано, що активації SUR-рецепторів та відкривання K_{ATP} -каналів флокаліном та фторвмісними аналогами діазоксиду – ДіазоФм та ДіазоФп – призводить до вазодилатації судин та кардіодепресорних реакцій у роботі серця [27, 37, 69, 76-78, 92, 490, 497, 498].

3.3. Вплив нових активаторів SUR-рецепторів K_{ATP} -каналів на дихання мітохондрій

Наслідком відкриття міто- K_{ATP} -каналів є зміна процесів окиснення субстратів та спряження дихання та фосфорилування [232, 399]. В експериментах з новими формами діазоксиду використовували метод полярографічного вимірювання поглинання кисню в суспензії ізольованих мітохондрій. В якості субстрату окиснення використовували α -кетоглутарат (дихання по комплексу I) та сукцинат (по комплексу II) натрію. Перший дозволяє визначити вплив активації K_{ATP} -каналів на весь дихальний ланцюг мітохондрій, оскільки в процесі фосфорилування задіяні 3 ланки утворення АТФ. Відомо, що окисне фосфорилування в мітохондріях локалізовано у 3 вузлових пунктах: НАДН \rightarrow флавопротеїд; цитохром $b \rightarrow$ цитохром c ; цитохром $c \rightarrow$ цитохроми $a + a_3$ [16]. При окисненні α -кетоглутарату електрони переносяться на НАД, за сукцинату – на КоQ, при цьому утворюється 3 або 2 молекули АТФ відповідно.

Показано, що дія флокаліну, ДіазоФп, ДіазоФм та діазоксиду на окисне фосфорилування в мітохондріях серця та печінки щурів залежить від субстрату окиснення [48, 49, 98, 239, 321, 424, 425]. В експериментах з флокаліном [98, 239, 321] показано, що в середовищі інкубації, що містить калій, він активує дихання мітохондрій в станах V_2 і V_4 (на 68,6 і 38,1 % відповідно, $P < 0,05$) та не впливає при цьому на АДФ-стимульоване дихання (V_3) при використанні в якості субстрату дихання сукцинату (рис. 3.26 а). На роз'єднане дихання в присутності ДНФ флокалін також не має істотного впливу. Водночас дещо зменшує спряження дихання та фосфорилування. Прискорення вільного дихання при наявності в середовищі калію може бути пов'язано з активацією транспорту іонів калію в мітохондріях. З метою перевірки цього припущення ми досліджували вплив флокаліну на дихання мітохондрій серця щурів в середовищі, що не містить іони калію (рис. 3.26 б). Було встановлено, що при відсутності іонів калію в середовищі інкубації, флокалін не збільшував швидкості V_2 і V_4 . Це підтверджує наше припущення про те, що прискорення мітохондріального дихання після

додавання флокаліну може бути пов'язано з активацією енергозалежного транспорту калію в мітохондріях, що забезпечується роботою міто- K_{ATP} -каналів. Отже, вірогідно, що підвищення швидкі дихання в стані V_2 та V_4 є наслідком стимуляції циклічного транспорту калію через внутрішню мембрану мітохондрій. Водночас флокалін на 29 % ($P < 0,05$) зменшував АДФ-стимульоване дихання та в деякій мірі спряження дихання та фосфорилування.

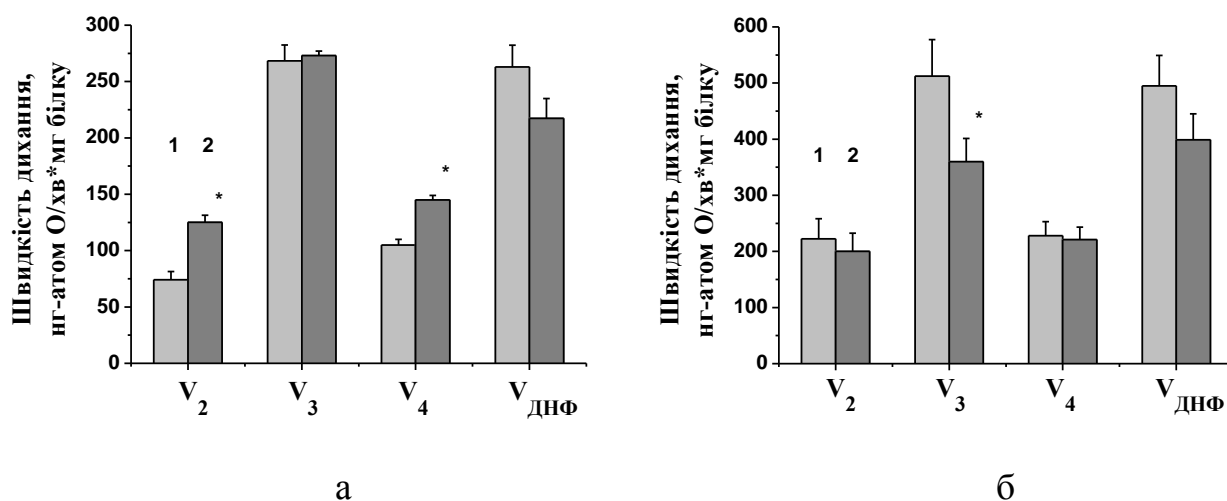


Рис.3.26 Вплив флокаліну (30 мкмоль/л) на дихання мітохондрій серця щурів в різних функціональних станах в середовищі інкубації, що містить іони калію (а) та без нього (б) при використанні в якості субстрату дихання сукцинату; де, 1 – контроль, 2 – за дії флокаліну; * $P < 0,05$ порівняно з контролем.

В експериментах на мітохондріях печінки також показано, що флокалін стимулює (проте меншою мірою порівняно з мітохондріями серця) дихання в станах V_2 і V_4 , незначно пригнічує дихання в присутності АДФ (V_3) та дещо зменшує спряження дихання та фосфорилування за сукцинату, як субстрату дихання (рис. 3.27 а). Водночас в експериментах при використанні в якості субстрату дихання α -кетоглутарату дія флокаліну дещо відрізняється (рис. 3.27 б, в). Відбувається активація спряженого дихання, та практично не змінюється АДФ-стимульоване та ДК. Останнє свідчить про відсутність впливу на спряження дихання та фосфорилування за α -кетоглутарату, як субстрату дихання [239]. Заміна іонів калію в середовищі інкубації на натрій не попереджувала ефект флокаліну на дихання мітохондрій печінки. Отже, ефекти флокаліну дещо

відрізняються в мітохондріях серця та печінки [98, 239, 321].

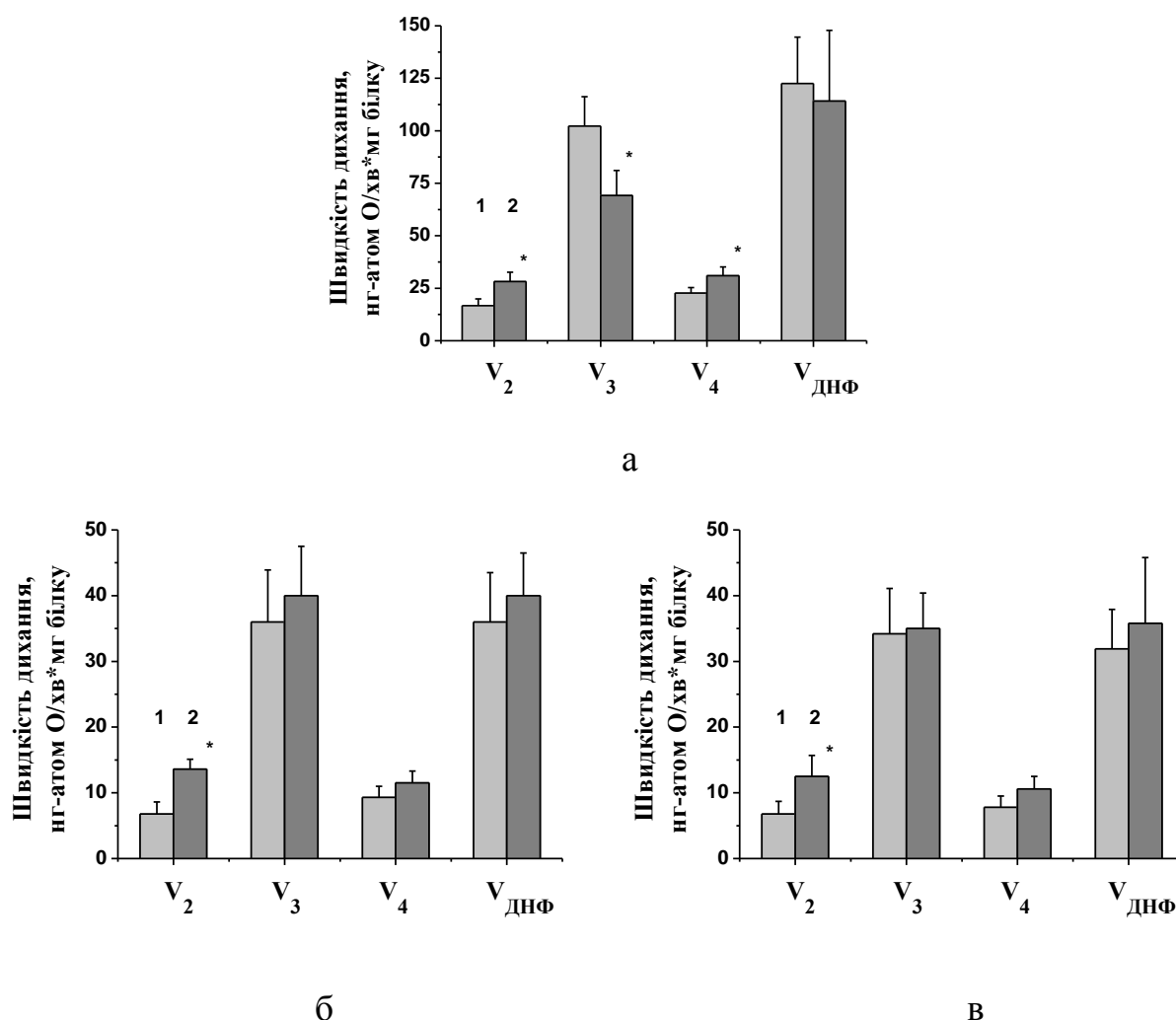


Рис. 3.27 Вплив флокаліну (30 мкмоль/л) на дихання мітохондрій печінки щурів в різних функціональних станах в середовищі інкубації, що містить іони калію при використанні в якості субстрату дихання сукцинату (а) та α -кетоглутарату, що містить іони калію (б) та без нього (в); де, 1 – контроль, 2 – за дії флокаліну; * $P < 0,05$ порівняно з контролем.

Інші активатори SUR-рецепторів калієвих каналів ДіазоФп, ДіазоФм та діазоксид дозі 30 мкмоль/л за сукцинату натрію в якості субстрату зменшували АДФ-стимульоване дихання (V₃) порівняно з контролем відповідно на 13,4, 23,9 та 33,9 % ($P < 0,05$). Подібним чином зменшувалася швидкість фосфорилування (V_ф), а саме на 9,1, 6,4 та 18,5 % відповідно, та відбувався роз'єднуючий вплив на окисне фосфорилування, що проявлялося у зменшенні дихального контролю за

Чансом (ДК), відповідно на 9,0, 11,7 та 26,9 % [48, 49].

Водночас за використання в якості субстрату окиснення α -кетоглутарату, введення в інкубаційне середовище ДіазоФп та ДіазоФм викликало, навпаки, збільшення АДФ-стимульованого дихання – відповідно на 33,7 ($P < 0,05$) та 18,3 %, тоді як діазоксид ефекту практично не мав. Зазнавали збільшення порівняно з контролем також показники швидкості дихання в метаболічному стані 2 та 4. Зокрема, для ДіазоФп та ДіазоФм V_2 збільшився на 41,2 ($P < 0,05$) та 21,8 %; V_4 – на 44,2 ($P < 0,05$) та 23,9 % відповідно. Діазоксид мав стимулюючий вплив лише на V_4 – посилення на 16,8%. Водночас всі три сполуки знижували ДК (на 10,9, 6,9 та 13,3 %) за дії ДіазоФп, ДіазоФм та діазоксиду відповідно, тобто спричиняли роз'єднуючий вплив окисне фосфорилування мітохондрій [48, 49].

Отже, вплив усіх форм діазоксиду на окисне фосфорилування в ізольованих мітохондріях печінки щурів залежить від використаного субстрату дихання. Якщо, за сукцинату натрію відбувається зменшення V_3 , то за α -кетоглутарату натрію спостерігається, навпаки, його підвищення. Проте не залежно від субстрату дихання вони зменшують дихальний контроль, тобто призводять до зменшення спряження процесів дихання та фосфорилування [48, 49, 424, 425].

Проте за аналізу наших та літературних даних здається, що вплив активаторів вищезазначених каналів на дихання в мітохондріях за умов гіпоксії та ішемії не є суттєвими для кардіопротекції. Адже різні фармакологічні активатори мають значні відмінності по дії на дихання (пінациділ пригнічує його по комплексу I, збільшує по комплексу II та підвищує синтез АТФ, діазоксид інгібує дихання по комплексу II, підвищує по комплексу I та, навпаки, зменшує спряження дихання та фосфорилування, і синтез АТФ, нікорандил пригнічує процеси дихання по комплексу IV), проте всі вони є потужними кардіопротекторами, та використовуються в експериментах для створення такого захисного феномену як фармакологічне прекодиціювання [205, 256, 277, 301, 339, 366, 399]. Важливим здається швидке відновлення нормального рівня АТФ з початком реперфузії та зменшення реперфузійних пошкоджень при відновленні притоку кисню до ішемізованої тканини [22, 205, 224, 229].

3.4. Зміна біохімічних показників плазми крові за активації SUR-рецепторів

В таблицях 3.8-3.9 представлено зміни біохімічних показників у плазмі артеріальної крові собак, що характеризують окисний метаболізм при активації SUR-рецепторів за допомогою субстанції флокаліну в дозах 0,1 (n = 7), 0,5 (n = 6), 1,0 (n = 5) та 1,5 мг/кг (n = 4).

Таблиця 3.8

Вплив активації SUR-рецепторів за допомогою різних доз флокаліну на вміст пулів цитруліну і сечової кислоти у плазмі крові анестезованих собак ($M \pm m$)

Показник	Час дії, хвилини	Дози введеного флокаліну, мг/кг			
		0,1	0,5	1,0	1,5
Цитрулін, нмоль/мг білка	0	62,5 ± 4,9	62,5 ± 4,9	62,5 ± 4,9	62,5 ± 4,9
	20	166,7 ± 19,3*	181,3 ± 11,5*	195,8 ± 14,2*	180,6 ± 1,4*
	60			138,4 ± 11,2*	183,1 ± 10,5*
Сечова кислота, нмоль/мг білка	0	4,46 ± 0,41	4,46 ± 0,41	4,46 ± 0,41	4,46 ± 0,41
	20	3,14 ± 0,28	1,26 ± 0,08*	1,05 ± 0,06*	1,89 ± 0,15*
	60			0,84 ± 0,09*	1,72 ± 0,19*

В табл. 3.8 – 3.17:

1. *P<0,05 – по відношенню до значення в контролі;
2. **P<0,05 – по відношенню до значення за короткочасної (20хв) активації SUR-рецепторів

Вперше показано, що активація SUR-рецепторів K_{ATP} -каналів інгібує ксантинооксидазу, яка є потужним продуцентом супероксид аніону, а з іншого боку завершує повну незворотну деградацію пуринових аденін- і гуанін нуклеотидів, про що свідчить зменшення плазматичних пулів сечової кислоти (рис.3.28). Пригнічення вмісту останньої має дозозалежний характер в межах 0,1-1,0 мг/кг, де вона досягає максимального зменшення – у 5,31 раза від вихідного

рівня на 60-ту хвилину після введення, рис. 3.28, табл. 3.8 [69, 497].

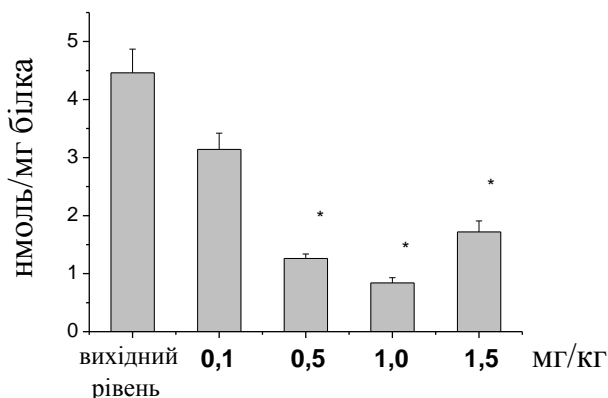


Рис. 3.28 Зміна вмісту пулів сечової кислоти при активації SUR-рецепторів за допомогою різних доз флоккаліну в плазмі крові анестезованих собак *in vivo*; * $P < 0,05$ – по відношенню до вихідного рівня

Таблиця 3.9

Зміна вмісту пулів пероксиду водню та ДК у плазмі крові анестезованих собак при активації SUR-рецепторів за допомогою різних доз флоккаліну, $M \pm m$

Показник	Час дії, хвилини	Дози введеного флоккаліну, мг/кг			
		0,1	0,5	1,0	1,5
H ₂ O ₂ , пмоль/мг білка	0	1,52 ± 0,20	1,52 ± 0,20	1,52 ± 0,20	1,52 ± 0,20
	20	1,08 ± 0,17	0,85 ± 0,11	0,51 ± 0,05*	0,33 ± 0,05*
	60			0,44 ± 0,11*	0,21 ± 0,03*
ДК, нг/мг білка	0	48,9 ± 4,9	48,9 ± 4,9	48,9 ± 4,9	48,9 ± 4,9
	20	34,2 ± 4,6	29,4 ± 4,4	24,8 ± 3,7*	14,8 ± 0,5*
	60			14,1 ± 1,8*	7,80 ± 0,7*/**

Вперше показано, що збільшення активації SUR-рецепторів K_{ATP}-каналів флоккаліном призводить до чіткого дозо-залежного зменшення H₂O₂, який утворюється при дисмутації супероксиду СОД (рис. 3.29 а). Максимальне зменшення (у 7,24 раза) відбувається при найбільшому рівні активації SUR через годину після введення флоккаліну (табл. 3.9, рис. 3.29 а) [69, 497].

Аналогічні дані отримали і при вимірюванні пулів ранніх продуктів ПОЛ –

ДК (рис. 3.29 б), та пізніх – МДА. Найбільше зниження (у 6,27 раза) перших зафіксовано при дозі 1,5мг/кг за годину після введення (табл. 3.9, рис. 3.29 б).

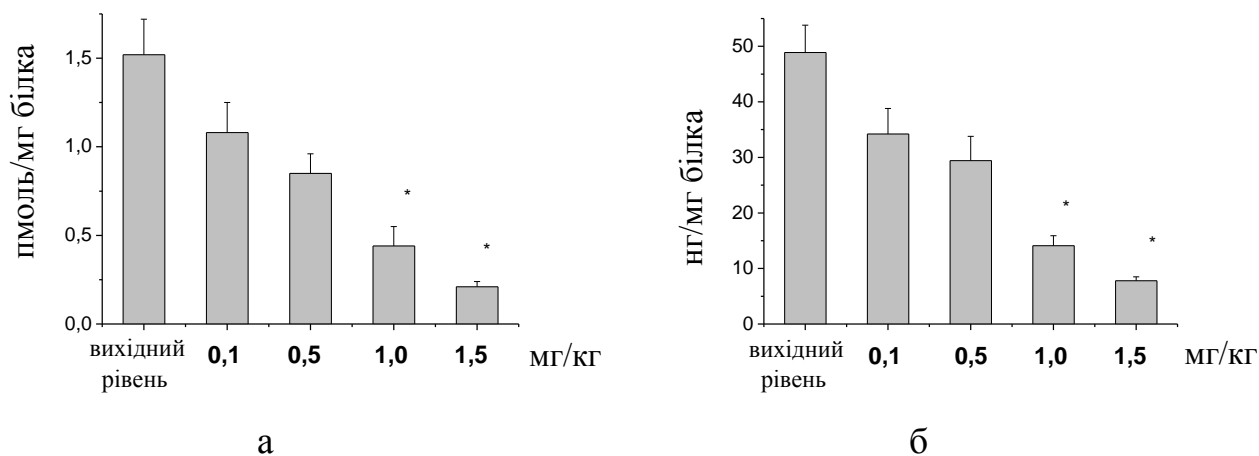


Рис. 3.29 Зміни вмісту перексиду водню (а) та дієнових кон'югатів (б) при активації SUR-рецепторів за допомогою різних доз флокаліну в плазмі крові анестезованих собак *in vivo*; * $P < 0,05$ – по відношенню до вихідного рівня

Отже, активування SUR-рецепторів вищезгаданих каналів клітинних мембран інгібує неферментативне вільнорадикальне окиснення ліпідів (процес ПОЛ). Разом з цим, активність ключових ферментів антиоксидантного захисту – СОД та каталази не змінювалась.

В таблицях 3.10, 3.12-3.14 представлені дані про вплив стимуляції SUR на зміну біохімічних показників, що характеризують синтез оксиду азоту в плазмі крові собак. Вперше показано, що їх активація стимулює окисний метаболізм аргініну – конститутивний синтез оксиду азоту, про що свідчить збільшення плазматичних пулів цитруліну (рис. 3.30 а, табл. 3.8) і підвищення активності ферменту cNOS (рис. 3.30 б, табл. 3.10) в плазмі крові. Слід зауважити, що потужне підвищення вмісту цитруліну спостерігається у всіх експериментах зі стимуляцією SUR. З мінімальним значенням зростання у 2,67 та максимальним у 3,13 раза при дозах флокаліну 0,1 та 1,0 мг/кг відповідно на 20-ту хвилину після інфузії (рис. 3.30 а, табл. 3.8). Аналогічним чином змінюється і активність cNOS. З мінімальним значенням зростання у 1,9 та максимальним у 3,05 раза при тих же дозах, водночас відповідно (рис. 3.30 б, табл. 3.10) [81, 497].

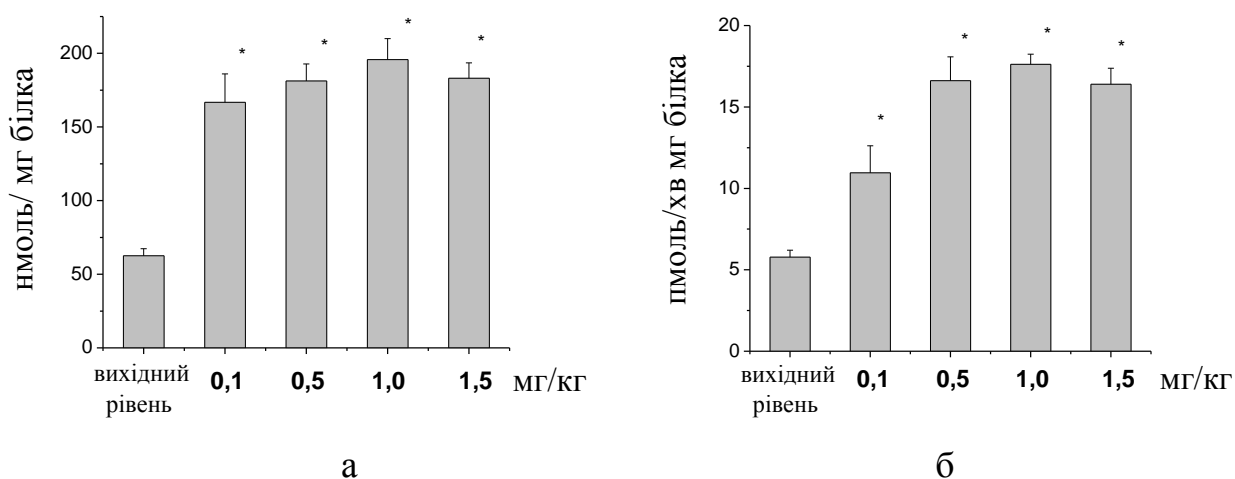


Рис. 3.30 Зміни вмісту пулів цитруліну (а) та активності ферменту cNOS (б) при активації SUR-рецепторів за допомогою різних доз флоккаліну в плазмі крові анестезованих собак *in vivo*; * $P < 0,05$ – по відношенню до вихідного рівня

Таблиця 3.10

Зміни активності різних ізоформ ферменту NOS в плазмі крові собак при активації SUR-рецепторів за допомогою різних доз флоккаліну, $M \pm m$

Показник	Час дії, хвилини	Дози введення флоккаліну, мг/кг			
		0,1	0,5	1,0	1,5
iNOS, пмоль/хв мг білка	0	2,94 ± 0,11	2,94 ± 0,11	2,94 ± 0,11	2,94 ± 0,11
	20	2,55 ± 0,16	2,39 ± 0,22	2,17 ± 0,18	2,13 ± 0,16
	60			1,61 ± 0,17*	1,42 ± 0,19*
cNOS, пмоль/хв мг білка	0	5,78 ± 0,42	5,78 ± 0,42	5,78 ± 0,42	5,78 ± 0,42
	20	10,96 ± 1,66*	16,61 ± 1,47*	17,62 ± 0,62*	16,4 ± 0,98*
	60			12,04 ± 1,72*	10,22 ± 2,15

Вперше показано, що потужна активація SUR-рецепторів (دوزи флоккаліну 1,0 та 1,5 мг/кг) достовірно підвищує значення індексу оксигенації, з найбільшими ефектами у 3,72 та 2,23 раза відповідно через годину після введення (рис. 3.31 а, табл. 3.11). Це збігається з даними про зростання в плазмі крові концентрації нітрит-аніона (див. рис. 3.31 б, табл. 3.12). Значення показника оксигенації свідчить про доступність кисню для генерації нітрит-аніона, адже він

утворюється спонтанно при окисненні оксиду азоту лише в окисгенованих розчинах. В наших експериментах, вперше показано, що збільшення пулів нітрит-аніона при активації SUR-рецепторів K_{ATP} -каналів флокаліном має дозозалежний характер в межах 0,1-1,0 мг/кг, з найбільшими значеннями зростання у 3,01 та 1,87 раза через годину після його введення у дозах 1,0 та 1,5 мг/кг (рис. 3.31, б, табл. 3.12).

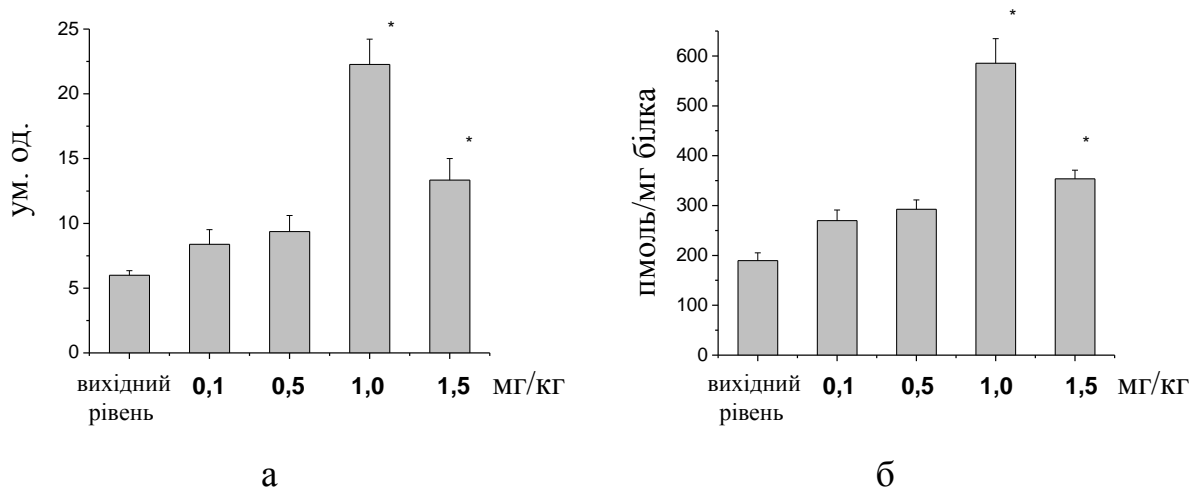


Рис. 3.31 Зміни значення індексу оксигенації (а) та вмісту пулів нітрит-аніона (б) в плазмі крові анестезованих собак при активації SUR-рецепторів за допомогою різних доз флокаліну; * $P < 0,05$ – по відношенню до вихідного рівня

Таблиця 3.11

Зміни значення індексу оксигенації (ІО) в плазмі крові собак при активації SUR-рецепторів за допомогою різних доз флокаліну, $M \pm m$

Показник	Час дії, хвилини	Дози введенного флокаліну, мг/кг			
		0,1	0,5	1,0	1,5
ІО, ум. од.	0	$5,99 \pm 0,36$	$5,99 \pm 0,36$	$5,99 \pm 0,36$	$5,99 \pm 0,36$
	20	$8,39 \pm 1,12$	$9,36 \pm 1,25$	$11,10 \pm 0,63^*$	$8,61 \pm 1,33$
	60			$22,27 \pm 1,95^{***}$	$13,34 \pm 1,67^*$

Зростання значення індексу оксигенації підтверджується також розрахунковими даними табл. 3.13, де показано підвищення частки нітрит-аніона (з максимумом у 5,55 раза) як у сумі ($\text{NO}_2^- + \text{NO}_3^-$), тобто стабільних

циркулюючих окиснених метаболітів оксиду азоту, так і в сумі ($\text{NO}_2^- + \text{НМНТ} + \text{ВМНТ}$), з максимумом у 2,36 раза через годину після введення 1,0 мг/кг флокаліну, тобто у загальній сумі безпосередніх попередників реутилізаційного синтезу оксиду азоту за рахунок ферментативного відновлення нітрит-аніона нітритредуктазою та неферментативного денітрозилювання нітрозотіолів (рис. 3.32).

Таблиця 3.12

Зміни вмісту пулів стабільних метаболітів NO в плазмі крові анестезованих собак при активації SUR-рецепторів за допомогою різних доз флокаліну, $M \pm m$

Показник	Час дії, хвилини	Дози введенного флокаліну, мг/кг			
		0,1	0,5	1,0	1,5
NO_2^- , пмоль/мг білка	0	189,4 ± 15,7	189,4 ± 15,7	189,4 ± 15,7	189,4 ± 15,7
	20	269,8 ± 21,4	292,5 ± 18,7	336,8 ± 35,6	264,0 ± 19,6
	60			585,5 ± 49,4*	353,6 ± 17,2*
NO_3^- , нмоль/мг білка	0	4,66 ± 0,49	4,66 ± 0,49	4,66 ± 0,49	4,66 ± 0,49
	20	3,51 ± 0,32	3,05 ± 0,28	2,78 ± 0,17	3,04 ± 0,49
	60			2,11 ± 0,22*	2,18 ± 0,32*

Таблиця 3.13

Зміни відносного вмісту (%) нітрит-аніона в сумі 2 ($\text{NO}_2^- + \text{NO}_3^-$) і в сумі 3 ($\text{NO}_2^- + \text{НМНТ} + \text{ВМНТ}$) в плазмі крові анестезованих собак при активації SUR-рецепторів за допомогою різних доз флокаліну, $M \pm m$

Показник	Час дії, хвилини	Дози введенного флокаліну, мг/кг			
		0,1	0,5	1,0	1,5
Частка NO_2^- в сумі 2	0	3,91 ± 0,28	3,91 ± 0,28	3,91 ± 0,28	3,91 ± 0,28
	20	7,14 ± 0,53*	8,75 ± 0,68*	10,81 ± 1,12*	7,99 ± 0,84*
	60			21,72 ± 1,52*/**	13,95 ± 1,27*
Частка NO_2^- в сумі 3	0	35,03 ± 2,87	35,03 ± 2,87	35,03 ± 2,87	35,03 ± 2,87
	20	49,04 ± 3,85	51,31 ± 6,24	58,17 ± 7,63	57,84 ± 9,07
	60			82,81 ± 6,75*	69,48 ± 5,19*

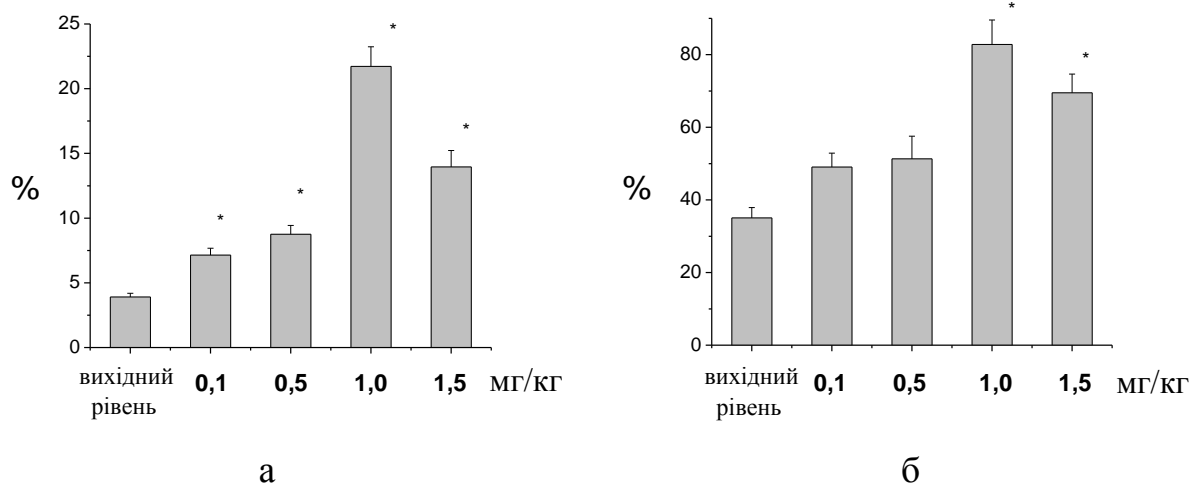


Рис. 3.32 Зміни відносного вмісту нітрит-аніона в сумі ($\text{NO}_2^- + \text{NO}_3^-$) (а) і в сумі ($\text{NO}_2^- + \text{HMNT} + \text{BMNT}$) (б) в плазмі крові собак при активації SUR-рецепторів за допомогою різних доз флокаліну; * $P < 0,05$ – по відношенню до вихідного рівня

Зменшення пулів нітрат-аніона при активації SUR-рецепторів (табл. 3.12), який утворюється при розпаді пероксинітриту, може свідчити про обмеження продукції останнього, можливо за рахунок інгібування генерації супероксид-радикалу ксантиноксидазою. Таке пригнічення вмісту нітрат-аніона є дозозалежним в межах введення 0,1-1,0 мг/кг флокаліну, з найбільшими ефектами зниження у 2,21 та 2,14 раза від вихідного рівня на 60-ту хвилину після інфузії значних доз: 1,0 та 1,5 мг/кг (рис. 3.33, табл. 3.12).

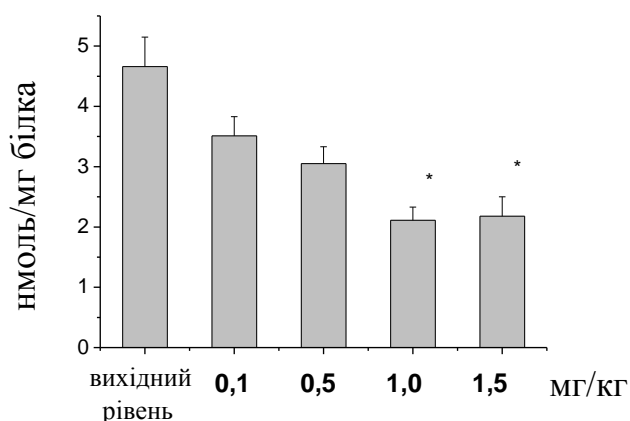


Рис. 3.33 Зміни вмісту пулів нітрат-аніона в плазмі крові собак *in vivo* при активації SUR-рецепторів за допомогою різних доз флокаліну; * $P < 0,05$ – по відношенню до вихідного рівня

Зменшення пулів нітрозотіолів вірогідно може бути наслідком зниження утворення пероксинітриту, який є нітрозилюючим агентом. Вперше показано, що активація SUR-рецепторів флокаліном призводить до дозозалежного зниження в плазмі крові собак вмісту пулів НМНТ та ВМНТ з максимальними ефектами у 5 та 2,88 раза від вихідного рівня через годину після введення (рис. 3.34, табл. 3.14).

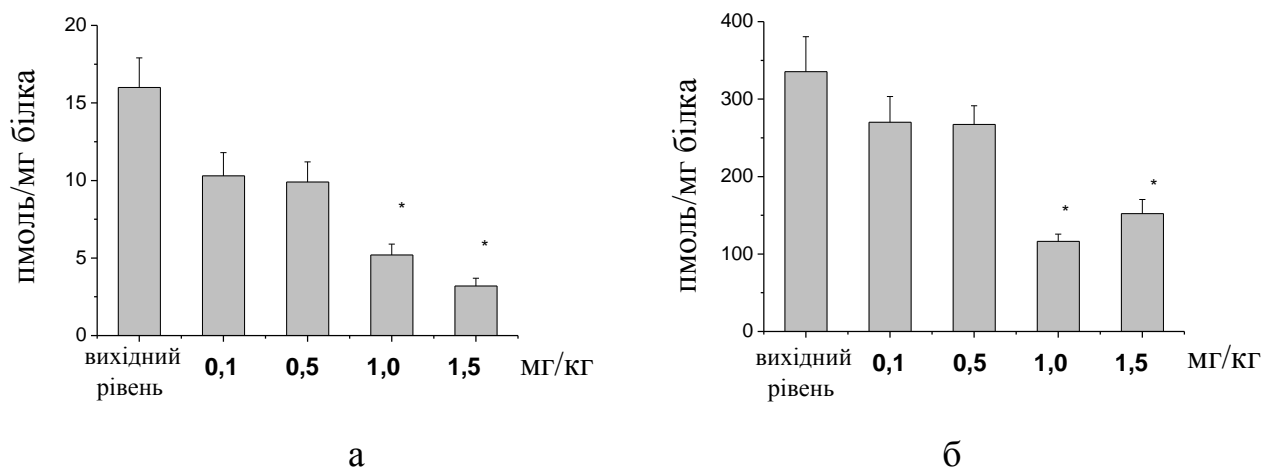


Рис. 3.34 Зміни вмісту пулів низько- (а) та високомолекулярних (б) нітрозотіолів при активації SUR-рецепторів за допомогою різних доз флокаліну в плазмі крові анестезованих собак *in vivo*; * $P < 0,05$ – по відношенню до вихідного рівня

Таблиця 3.14

Зміни вмісту пулів нітрозотіолів в плазмі крові анестезованих собак при активації SUR-рецепторів за допомогою різних доз флокаліну, $M \pm m$

Показник	Час дії, хвилини	Дози введенного флокаліну, мг/кг			
		0,1	0,5	1,0	1,5
НМНТ, пмоль/мг білка	0	16,0 ± 1,9	16,0 ± 1,9	16,0 ± 1,9	16,0 ± 1,9
	20	10,3 ± 1,5	9,9 ± 1,3	8,1 ± 0,5*	5,4 ± 0,6*
	60			5,2 ± 0,7*	3,2 ± 0,5*
ВМНТ, пмоль/мг білка	0	335,3 ± 45,2	335,3 ± 45,2	335,3 ± 45,2	335,3 ± 45,2
	20	270,06 ± 3,2	267,6 ± 24,1	234,1 ± 13,4	187,05 ± 16,5
	60			116,3 ± 9,5**	152,1 ± 18,3*

Ще одним доказом зменшення утворення пероксинітриту при активації

SUR-рецепторів може бути зменшення долі нитрозотіолів в їх сумі з нітрит-аніоном (табл. 3.15). Розрахункові величини долі нитрозотіолів в вищезазначеній сумі є подібними до отриманих в експерименті значень їх вмісту в плазмі крові. Зокрема, для НМНТ показано дозозалежне зниження з максимумом у 4,7 рази (рис. 3.35 а). Для ВМНТ – дозозалежне зниження в межах 0,1-1,0 мг/кг, з максимумом у 3,77 рази від вихідного рівня після інфузії 1,0 мг/кг флокаліну-С через годину після введення (рис. 3.35 б).

Таблиця 3.15

Зміни відносного вмісту (%) НМНТ і ВМНТ в сумі 3 (NO_2^- + НМНТ + ВМНТ) в плазмі крові анестезованих собак при активації SUR-рецепторів за допомогою різних доз флокаліну, $M \pm m$

Показник	Час дії, хвилини	Дози введенного флокаліну, мг/кг			
		0,1	0,5	1,0	1,5
Частка НМНТ	0	2,96 ± 0,11	2,96 ± 0,11	2,96 ± 0,11	2,96 ± 0,11
	20	1,87 ± 0,14	1,74 ± 0,15*	1,40 ± 0,12*	1,18 ± 0,09*
	60			0,74 ± 0,05*/**	0,63 ± 0,04*/**
Частка ВМНТ	0	62,01 ± 5,43	62,01 ± 5,43	62,01 ± 5,43	62,01 ± 5,43
	20	49,09 ± 5,12	46,93 ± 3,85	40,43 ± 3,67	40,98 ± 5,42
	60			16,45 ± 1,6*/**	29,89 ± 2,05*

Вперше показано, що активація SUR-рецепторів флокаліном дозо-залежно пригнічувала активність Ca^{2+} -незалежного синтезу оксиду азоту таким ферментом як індукцибельна NO-синтаза. Максимальне інгібування у 2,07 рази відбувалося за годину після інфузії 1,5 мг/кг флокаліну (рис. 3.36, табл. 3.10). Цілком можливо, що це зменшення відбувається за рахунок зниження утворення супероксид-аніону (див. рис. 3.28), стимулятором якої він є. І, навпаки, активація SUR при умовах близьких до фізіологічних, збільшувала активність cNOS (Ca^{2+} -залежного синтезу оксиду азоту). Слід зауважити, що механізмом активації останньої теж може бути пригнічення генерації супероксиду, позаяк він є інгібітором конститутивного

синтезу оксиду азоту – як експресії, так і активності ферменту cNOS.

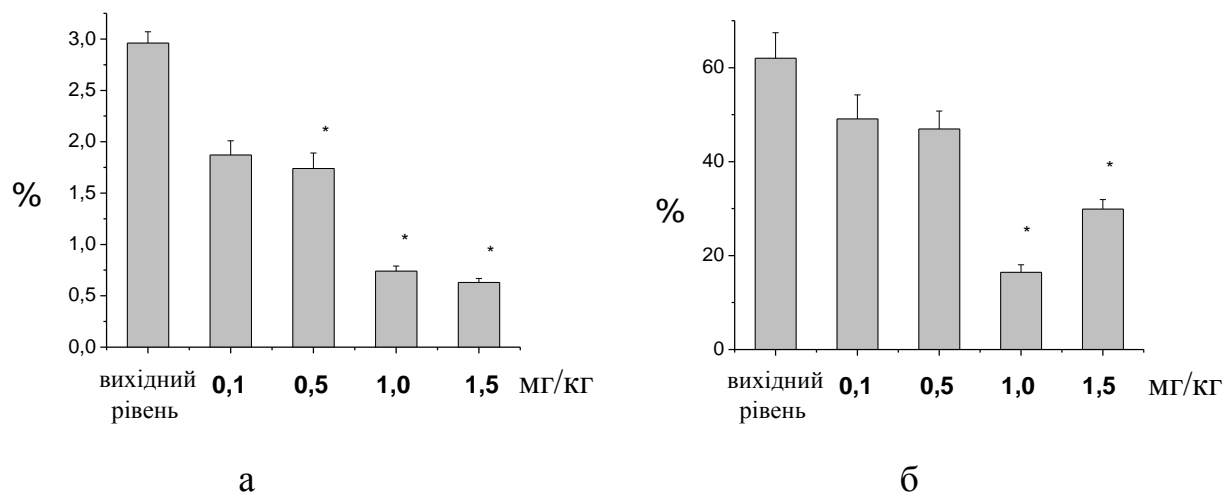


Рис. 3.35 Зміни відносного вмісту НМНТ(а) і ВМНТ(б) у сумі попередників реулятизаційного синтезу оксиду азоту ($\text{NO}_2^- + \text{НМНТ} + \text{ВМНТ}$) в плазмі крові собак при активації SUR-рецепторів за допомогою різних доз флокаліну; * $P < 0,05$ – по відношенню до вихідного рівня

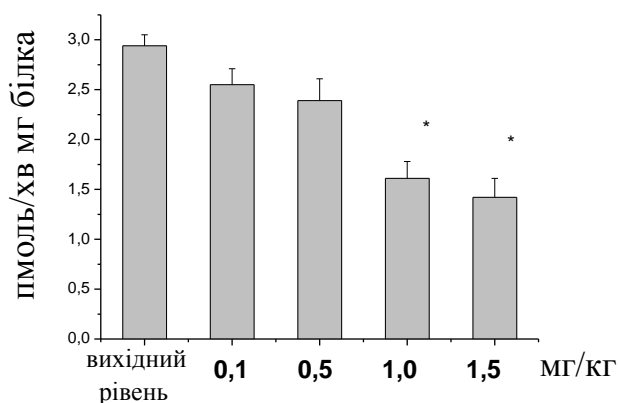


Рис. 3.36 Зміни активності ферменту iNOS при активації SUR-рецепторів за допомогою різних доз флокаліну в плазмі крові собак *in vivo*; * $P < 0,05$ – по відношенню до вихідного рівня

Дослідження впливу стимуляції SUR-рецепторів на вміст у плазмі крові собак продуктів гемоксигеназної реакції показало, що за великих доз він достовірно зменшує її активність, про що свідчить зменшення плазматичних пулів зразу двох її продуктів – заліза та білірубину (рис. 3.38, табл. 3.16).

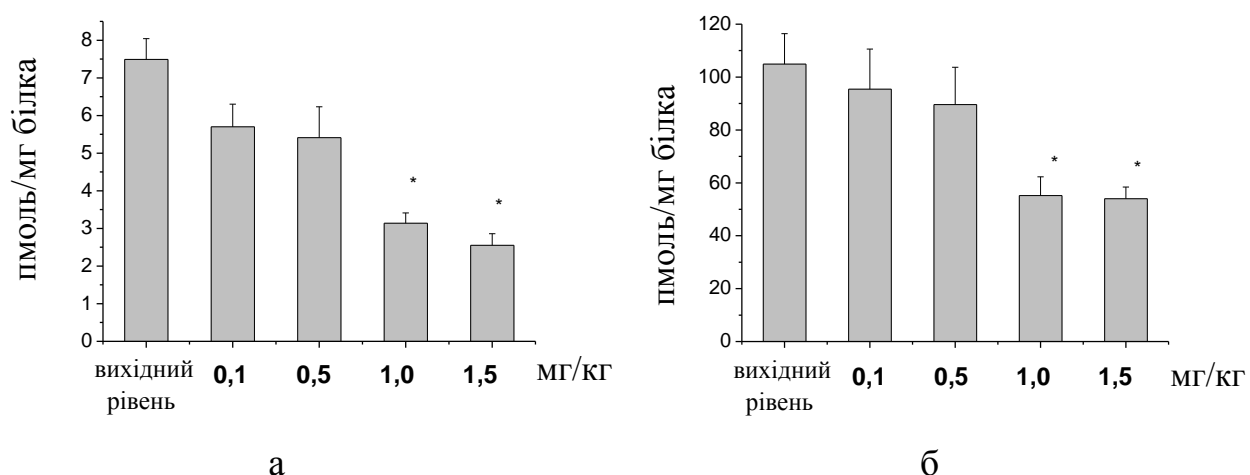


Рис. 3.38 Зміни вмісту пулів продуктів гемоксигеназної реакції – білірубину (а) та заліза (б) при активації SUR-рецепторів за допомогою різних доз флокаліну в плазмі крові анестезованих собак *in vivo*; * $P < 0,05$ – по відношенню до вихідного рівня

Таблиця 3.16

Зміни вмісту пулів продуктів гемоксигеназної реакції в плазмі крові собак при активації SUR-рецепторів за допомогою різних доз флокаліну, $M \pm m$

Показник	Час дії, хвилини	Дози введенного флокаліну, мг/кг			
		0,1	0,5	1,0	1,5
Білірубін, пмоль/мг білка	0	7,49 \pm 0,55	7,49 \pm 0,55	7,49 \pm 0,55	7,49 \pm 0,55
	20	5,70 \pm 0,60	5,41 \pm 0,82	4,18 \pm 0,33	3,69 \pm 0,52*
	60			3,14 \pm 0,27*	2,55 \pm 0,31*
Fe ²⁺ , пмоль/мг білка	0	104,9 \pm 11,5	104,9 \pm 11,5	104,9 \pm 11,5	104,9 \pm 11,5
	20	95,4 \pm 15,2	89,6 \pm 14,1	83,9 \pm 9,8	72,6 \pm 8,3
	60			55,2 \pm 7,1*	54,0 \pm 4,4*

Подібні ефекти були отримані при активації SUR-рецепторів за допомогою таблеток флокаліну-3 (для дози 1,5, 2,2 та 3,3 мг/кг $n=6$, $n=7$ та $n=5$ відповідно). У цих дослідках пероральне введення таблеток флокаліну в дозах 2,2 та 3,3 мг/кг підвищувало в плазмі крові вміст цитруліну в 1,31 та 1,25 раза та активність ферменту cNOS у 1,68 та 1,28 раза відповідно. Водночас відбувалося пригнічення

індуцибельного *de novo* синтезу NO ферментом індуцибельною NO-синтазою – у 1,34 та 1,31 раза при введенні таблеток в дозі 1,5 та 3,3 мг/кг відповідно [90, 92].

Вперше показано, що за умов, близьких до фізіологічних, активування SUR-рецепторів K_{ATP} -каналів призводить до зменшення вмісту в плазмі крові вільної арахідонової кислоти (у 1,8, 1,43 та 1,4 раза при пероральному введенні 1,5, 2,2 та 3,3 мг/кг відповідно таблеток флокаліну), що може свідчити про гальмування деградації фосфоліпідів клітинних мембран, можливо, в результаті пригнічення активності фосфоліпази A_2 [90, 92].

Значного пригнічення зазнають вільнорадикальні процеси, про що може свідчити достовірне зменшення H_2O_2 (найбільше зниження у 1,63 раза ($P < 0,05$) при дозі флокаліну-3 2,2 мг/кг) та продукту ПОЛ – ДК (максимальне зниження вдвічі ($P < 0,05$) при дозі 1,5 мг/кг) [90, 92].

Таким чином, проведені біохімічні дослідження плазми крові анестезованих собак показали, що за умов, близьких до фізіологічних, активування SUR-рецепторів K_{ATP} -каналів підвищує рівень конститутивного синтезу оксиду азоту і, є потужним антигіпоксичним механізмом, проявляє антиоксидантні та мембранопротекторні властивості, зменшує утворення пероксинітриту за рахунок гальмування утворення супероксид-аніона і синтезу NO індуцибельною синтазою [69, 497].

РОЗДІЛ 4

ДОСЛІДЖЕННЯ МЕХАНІЗМІВ КАРДІОПРОТЕКТОРНОЇ ДІЇ АКТИВАЦІЇ
SUR-РЕЦЕПТОРІВ K_{ATP} -КАНАЛІВ**4.1. Відносна роль у кардіопротекції активації сарко- та міто- K_{ATP} -каналів при ішемії-реперфузії ізольованого серця.****4.1.1. Кардіопротекторні ефекти субстанції флокаліну.**

Ішемічно-реперфузійні пошкодження серця супроводжуються значними ультраструктурними порушеннями міокарда, збільшенням КПТ та порушенням ритму під час реперфузії ішемізованого серця. Також зменшується скоротлива функція серця, що проявляється в значному зниженні ТЛШ, першої похідної – dP/dt , збільшенням КДТ та значно повільнішим відновленням скоротливої активності серця з початку реперфузії, (рис. 4.1, а). Вперше встановлено, що доішемічне активація SUR-рецепторів субстанцією флокаліну (5 мкмоль/л протягом 5хв) значним чином попереджує вище перераховані прояви пошкоджуючого впливу ішемічного та реперфузійного чинників (рис. 4.1, б) [36, 89, 97, 538]. Так, якщо час до повної зупинки серця від початку тотальної ішемії міокарда відрізнявся від контролю несуттєво, то час, потрібний для відновлення серцевих скорочень після тотальної ішемії міокарда від початку реперфузії (один із важливих показників кардіопротекції – показник готовності ішемізованого міокарда до роботи, що передбачає наявність енергоресурсів (АТФ) і ступінь ішемічних пошкоджень) відрізнявся досить значно (табл. 4.1, рис. 4.2). В контрольних дослідах серце відновлювало роботу в середньому тільки через $63,71 \pm 10,3$ секунд ($n=11$) від початку реперфузії, тоді як в серії з активацією SUR – вже через $36,45 \pm 3,25$ секунди ($n=15$; $P<0,001$), що майже в 1,75 раз швидше ніж у контролі. При попередній блокаді міто- K_{ATP} -каналів за допомогою 5-ГД серце відновлювало роботу через $46 \pm 9,96$ секунди ($n=5$).

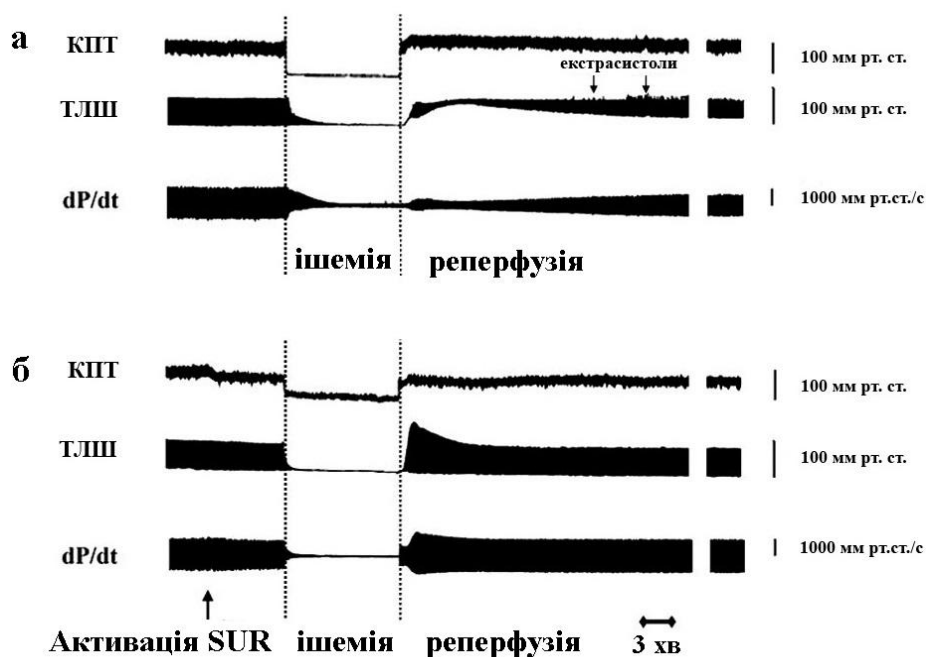


Рис. 4.1 Кардіопротекторний ефект активації SUR-рецепторів (б) при ішемії-реперфузії ізолюваного та перфузованого за Лангендорфом серця; а – контроль (ішемія-реперфузія без активації SUR); КПТ – коронарний перфузійний тиск, мм рт.ст.; ТЛШ – тиск у лівому шлуночку, мм рт.ст.; dP/dt – перша похідна тиску у лівому шлуночку, мм рт.ст./с

Таблиця 4.1

Вплив зміни активності K_{ATP} -каналів на показники діяльності ізолюваного серця морської свинки при експериментальній ішемії-реперфузії міокарда, $M \pm m$.

Показники	Умови експерименту		
	Контроль (n=11)	Активация SUR- рецепторів (n=15)	Блокування K_{ATP} - каналів (5-ГД) + активация SUR (n=5)
Час до повної зупинки серця з початку ішемії, хв	$3,21 \pm 0,33$	$3,23 \pm 0,39$	$2,8 \pm 0,23$
Час до початку скорочень з початку реперфузії, сек.	$63,71 \pm 20,3$	$36,45 \pm 3,25 *$	$46 \pm 9,96$
Кількість екстрасистол за 1 хв.	$22,86 \pm 1,59$	$2,83 \pm 0,94 *$	$9,67 \pm 1,85 ***$

Примітки: тут та у табл. 4.2 – 4.4

1. * $P < 0,05$ по відношенню до контролю,
2. ** $P < 0,05$ по відношенню до значень при активації SUR-рецепторів

Таким чином, показано значну роль передішемичної активації SUR-рецепторів K_{ATP} -каналів у прискоренні відновлення роботи ішемізованого серця з початком реперфузії. Слід зауважити, що важливим в даному випадку є активація обох типів K_{ATP} -каналів, як сарколемальних так і мітохондріальних [36, 89, 97].

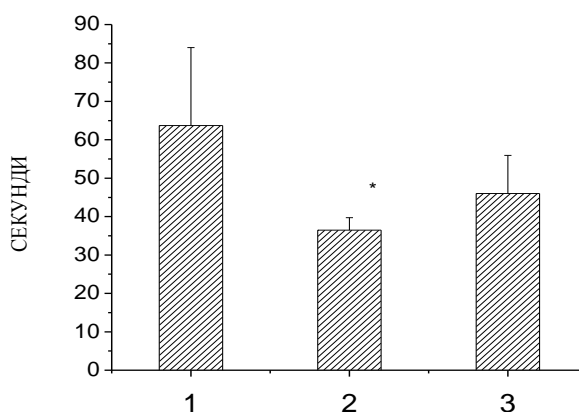


Рис. 4.2 Вплив зміни активності K_{ATP} -каналів на швидкість відновлення скорочень серця від початку реперфузії ішемізованого серця морської свинки; 1 – контроль (ішемія-реперфузія); 2 – активація SUR-рецепторів + ішемія-реперфузія; 3 – блокування міто- K_{ATP} -каналів за допомогою 5-ГД (200 мкмоль/л) + активація SUR-рецепторів + ішемія-реперфузія; * $P < 0.05$ по відношенню до контролю

Аналогічний позитивний ефект активації SUR-рецепторів на функцію серця спостерігався і при розрахунках інших показників діяльності серця. Значно краще ніж в контролі відбувалося відновлення скоротливої активності лівого шлуночка серця (рис. 4.3, табл. 4.2 та 4.3). При активації SUR вже на 15-ту хвилину реперфузії систолічний тиск та тиск, що розвивається в лівому шлуночці відновлювалися порівняно з доішемичним рівнем відповідно на 93,21 та 95,97%, а на 30-ту хвилину реперфузії – вже на 98,88 та 99,48% відповідно. Водночас в контрольних експериментах під час всього періоду реперфузії ці показники були значно меншими і навіть на 40-ву хвилину становили, всього, 67,73 та 60,99% від вихідного рівня [36, 89, 97, 538].

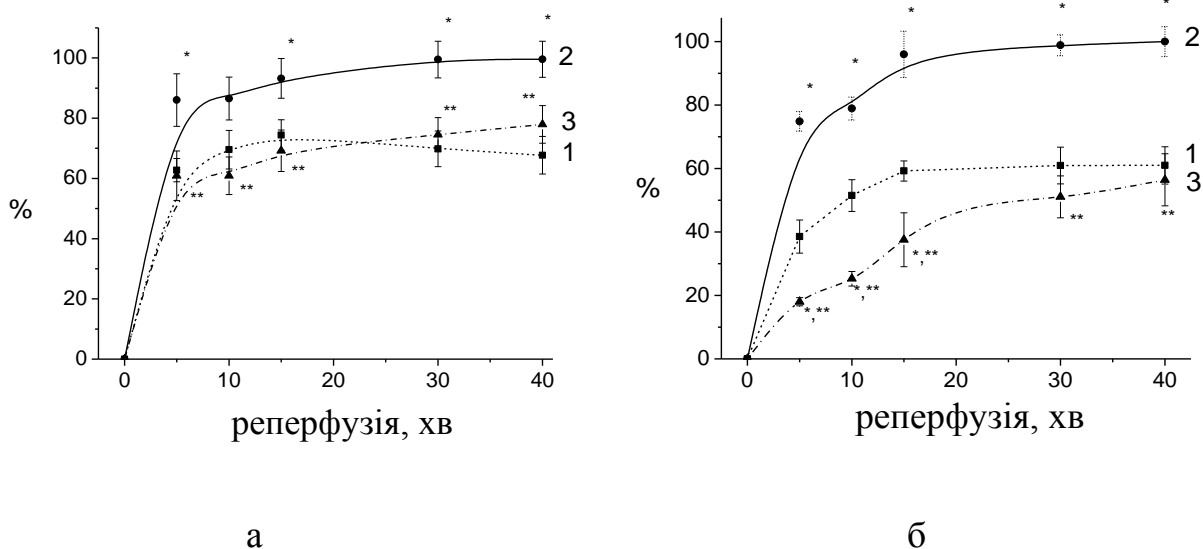


Рис. 4.3 Залежність систоличного тиску (а) та тиску, що розвивається (б) в лівому шлуночку під час реперфузії ішемізованого серця морської свинки від зміни активності K_{ATP} -каналів; за 100% прийнято вихідне значення тиску; 1 – контроль (ішемія-реперфузія); 2 – активація SUR-рецепторів + ішемія-реперфузія; 3 – блокування міто- K_{ATP} -каналів за допомогою 5-ГД (200 мкмоль/л) + активація SUR-рецепторів + ішемія-реперфузія; * $P < 0,05$ по відношенню до контролю; ** $P < 0,05$ по відношенню до значень при активації SUR-рецепторів

Попереднє блокування міто- K_{ATP} -каналів за допомогою 5-ГД майже повністю знімало вище зазначений кардіопротекторний ефект стимуляції SUR-рецепторів – систолічний тиск та тиск, що розвивається в лівому шлуночку під кінець реперфузії (40-ва хвилина) відновлювалися у середньому лише на 77,95 та 56,5% від вихідного рівня та достовірно не відрізнялися від контролю (рис. 4.3). Отримані результати дозволяють припустити, що ключову роль у відновленні роботи ішемізованого серця під час реперфузії відіграють саме K_{ATP} -канали мітохондріальної мембрани.

До позитивної дії активації вищезгаданих рецепторів слід віднести попередження зростання рівня КДТ в лівому шлуночку під час реперфузії ішемізованого серця. Якщо в контрольних експериментах під час реперфузії ішемізованого серця він є дещо збільшеним, особливо в перші 20 хв, то в експериментах з попередньою активацією SUR він практично не змінюється.

Водночас в серії експериментів з блокуванням міто- K_{ATP} -каналів КДТ значно зростав, що вказує на їх виняткову роль у відновленні ішемізованого серця під час реперфузії.

Таблиця 4.2

Вплив зміни активності K_{ATP} -каналів на рівень систоличного тиску в лівому шлуночці під час реперфузії ішемізованого серця морської свинки, $M \pm m$.

Час вимірювання	Умови експерименту			
	Одиниці вимірювання	Контроль (n=11)	Активація SUR-рецепторів (n=15)	Блокування K_{ATP} -каналів (5-ГД) та активація SUR (n=5)
Доішемичний рівень тиску	мм рт.ст.	72,08±8,24	63,73±4,43	69,25±9,17
	%	100	100	100
Реперфузія 5хв	мм рт.ст.	45,23±4,82	54,83±6,38	42,16±8,32
	%	62,75	86,03 *	60,88 **
Реперфузія 10хв	мм рт.ст.	50,63±6,22	55,14±5,92	42,17±7,51
	%	69,55	86,52	60,9 **
Реперфузія 15хв	мм рт.ст.	53,62±5,87	59,4±5,05	47,9±8,18
	%	74,39	93,21 *	69,17 **
Реперфузія 30хв	мм рт.ст.	50,32±5,78	63,4±5,46	51,62±8,07
	%	69,81	99,48 *	74,54 **
Реперфузія 40хв	мм рт.ст.	48,82±5,33	63,47±5,56	53,98±7,7
	%	67,73	99,58 *	77,95 **

Суттєву роль у відновленні функції ішемізованого міокарда відіграє, також, активація сарко- K_{ATP} -каналів. Одним із підтверджень цього положення є дані про позитивний вплив стимуляція SUR-рецепторів на кількість реперфузійних екстрасистол, за якої їх кількість, порівняно з контролем, зменшувалася у 8 разів та складала в середньому $2,83 \pm 0,94$ екстрасистоли за хвилину (n=15; $P<0,05$) в

порівнянні до $22,86 \pm 1,59$ у контролі (рис. 4.4, табл. 4.1). При блокуванні міто- K_{ATP} -каналів та стимуляції SUR цей показник складав у середньому $9,67 \pm 1,85$ екстрасистол за хвилину ($n=5$; $P<0,05$), що було майже в 2,4 раза менше ніж в контролі та у 3,4 раза більше ніж без їх блокування. Що може свідчити про внесок в антиаритмічну дію обох типів каналів [36, 89, 97].

Таблиця 4.3

Вплив зміни активності K_{ATP} -каналів на рівень тиску, що розвивається в лівому шлуночці під час реперфузії ішемізованого серця морської свинки, $M \pm m$.

Час вимірювання	Умови експерименту			
	Одиниці вимірювання	Контроль (n=11)	Активация SUR-рецепторів (n=15)	блокування K_{ATP} -каналів (5-ГД) + активация SUR (n=5)
Доішемичний рівень тиску	мм рт.ст.	$67,24 \pm 7,53$	$60,58 \pm 4,49$	$66,25 \pm 7,0$
	%	100	100	100
Реперфузія 5хв	мм рт.ст.	$26,49 \pm 4,98$	$46,1 \pm 8,72$	$11,03 \pm 2,28$
	%	38,55	74,88*	18,02 ***
Реперфузія 10хв	мм рт.ст.	$34,18 \pm 5,28$	$48,55 \pm 7,65$	$17,03 \pm 5,14$
	%	51,49	78,92*	25,26 ***
Реперфузія 15хв	мм рт.ст.	$39,17 \pm 3,92$	$54,32 \pm 6,62$	$24,75 \pm 7,05$
	%	59,23	95,97*	37,54 ***
Реперфузія 30хв	мм рт.ст.	$40,04 \pm 4,63$	$59,83 \pm 6,54$	$33,15 \pm 8,41$
	%	60,96	98,88*	51,09 **
Реперфузія 40хв	мм рт.ст.	$40 \pm 4,63$	$60,61 \pm 6,47$	$36,58 \pm 10,14$
	%	60,99	100,01*	56,44 **

Слід зауважити, що в динаміці реперфузії активация SUR-рецепторів у значній мірі впливала на тонус коронарних судин. Якщо в контрольних дослідах в

перші 10 хв реперфузії КПТ дещо збільшувався, то в серії дослідів з активацією SUR мало місце суттєве розширення коронарних судин, на першій хвилині – на 22, на 5 і 10 хвилини на 9 і 7% ($n=15$; $P<0,05$) відповідно (табл. 4.4, рис. 4.5) [36, 89, 97].

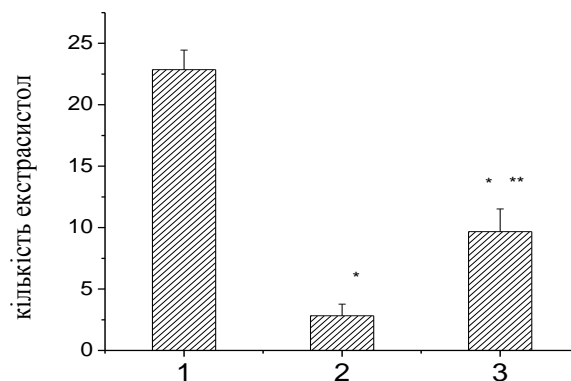


Рис. 4.4 Вплив зміни активності K_{ATP} -каналів на максимальну кількість екстрасистол (за 1 хв) під час реперфузії ішемізованого серця морської свинки; 1 – контроль (ішемія-реперфузія); 2 – активація SUR-рецепторів + ішемія-реперфузія; 3 – блокування міто- K_{ATP} -каналів за допомогою 5-ГД (200 мкмоль/л) + активація SUR-рецепторів + ішемія-реперфузія; * $P<0,05$ по відношенню до контролю; ** $P<0,05$ по відношенню до значень при активації SUR-рецепторів

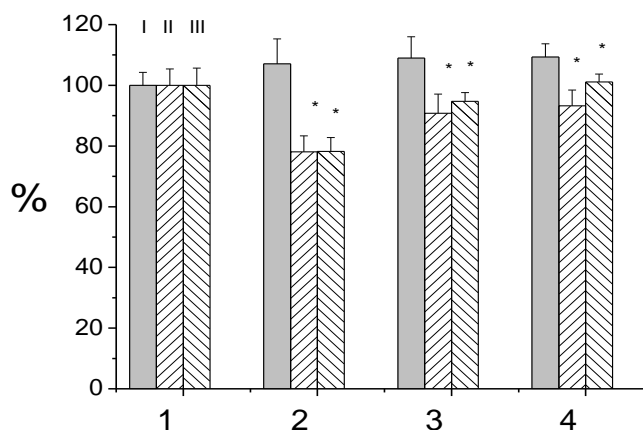


Рис. 4.5 Вплив зміни активності K_{ATP} -каналів на рівень КПТ при реперфузії ішемізованого серця морської свинки; за 100% прийнято вихідне значення тиску; I – ішемія-реперфузія; II – активація SUR-рецепторів + ішемія-реперфузія; III – блокування міто- K_{ATP} -каналів за допомогою 5-ГД (200 мкмоль/л) + активація SUR-рецепторів + ішемія-реперфузія; 1 – доішемічний рівень КПТ; 2-4 – відповідно 1, 5 та 10-та хвилини реперфузії; * $P<0,05$ по відношенню до контролю

Блокування міто- K_{ATP} -каналів 5-ГД достовірно не змінювало попередження реперфузійної констрикції коронарних судин (див. рис. 4.5, табл. 4.4.) при активації SUR, що може свідчити про основну роль в цьому механізмі саме вищезгаданих каналів сарколемальної мембрани. Водночас відбувалося швидше відновлення КПТ до вихідного доішемічного рівня.

Таблиця 4.4

Вплив зміни активності K_{ATP} -каналів на рівень КПТ під час реперфузії ішемізованого серця морської свинки, $M \pm m$.

Час вимірювання	Умови експерименту			
	Одиниці вимірювання	Контроль (n=11)	Активация SUR-рецепторів (n=15)	Блокування K_{ATP} -каналів (5-ГД) + активация SUR (n=5)
Доішемічний рівень тиску	мм рт.ст.	$69,39 \pm 5,87$	$64,19 \pm 5,47$	$74,21 \pm 4,43$
	%	100	100	100
Реперфузія 5хв	мм рт.ст.	$75,07 \pm 6,44$	$57,62 \pm 7,65$	$70,28 \pm 4,35$
	%	108,97	90,78*	94,7*
Реперфузія 10хв	мм рт.ст.	$74,81 \pm 5,12$	$58,46 \pm 6,16$	$75,02 \pm 3,22$
	%	109,35	93,24*	101,09*
Реперфузія 15хв	мм рт.ст.	$69,36 \pm 4,37$	$60,11 \pm 6,26$	$76,5 \pm 3,22$
	%	101,78	95,8	103,09
Реперфузія 30хв	мм рт.ст.	$69,82 \pm 4,63$	$62,55 \pm 6,97$	$74,83 \pm 4,14$
	%	102,1	99,21	100,84
Реперфузія 40хв	мм рт.ст.	$67,15 \pm 4,88$	$62,56 \pm 6,93$	$74,88 \pm 3,97$
	%	98,63	99,5	100,9

Таким чином, активація SUR-рецепторів K_{ATP} -каналів має виражені кардіопротекторні властивості: суттєво покращує відновлення скоротливої активності ішемізованого міокарда під час реперфузії, запобігає значному

підвищенню КДТ та реперфузійній вазоконстрикції коронарних судин, значно зменшує кількість порушень ритму серця. Показано, що в відновленні роботи ішемізованого серця за реперфузії відіграють роль як міто-, так і сарко- K_{ATP} -канали. Перші, як свідчать наші дані, в більшій мірі відповідають за відновлення скоротливої активності міокарда, другі, в основному, за судинні реакції. У нормалізації ритму ішемізованого серця, що проявляється в зменшенні реперфузійних екстрасистол, приймають участь обидва типи каналів [89, 97, 538].

4.1.2 Кардіопротекторні ефекти таблеток флокаліна-Л.

В серії експериментів на ізольованих, перфузованих за Лангендорфом серцях самців морської свинки зі створенням ішемії (20 хв) та наступної реперфузії (40 хв) було вперше показано, що активація SUR-рецепторів флокаліном-Л (таблетки) в дозі 5 мкмоль/л суттєво поліпшувала відновлення роботи та скоротливої функції міокарда під час реперфузії [87]. Так, якщо час до повної зупинки серця від початку тотальної ішемії міокарда відрізнявся від контрольних експериментів несуттєво, то відновлення серцевих скорочень від початку реперфузії ішемізованого міокарда в експериментах з доішемічною активацією SUR-рецепторів флокаліном-Л відбувалося втричі швидше – за $20,62 \pm 1,78$ секунди ($n=11$, $P<0,05$) в порівнянні з $63,32 \pm 8,3$ секунди в контролі ($n=12$). Дія лікарської форми флокаліна була подібна до ефектів субстанції.

Значно краще ніж в контролі протягом усього періоду реперфузії відновлювалася скоротлива активність лівого шлуночка, зокрема систолічного тиску та тиску, що розвивається у лівому шлуночку (табл. 4.5 та 4.6). Найвищих значень тиск, що розвивається досягав на 30-ту та 40-ву хвилину, де він був більшим ніж у контролі у 1,65 та 1,44 раза відповідно (рис. 4.6 а). Значною мірою цьому може сприяти попередження підвищення рівня КДТ, яке було зменшеним порівняно з контролем протягом всього періоду реперфузії, а на 30-ту та 40-ву хвилину різниця була більш ніж у 1,5 раза [87].

До позитивних ефектів слід віднести суттєве зниження реперфузійної вазоконстрикції (рис. 4.6 б, табл. 4.5 та 4.6).

Таблиця 4.5

Вплив активації SUR-рецепторів флокаліном-Л (5 мкмоль/л) на відновлення функції ішемізованого серця морської свинки під час реперфузії. Дані представлені в оригінальних одиницях, (n=12, M±m)

Показник	Тип експерименту	Вихідне значення	Реперфузія, хв				
			1	5	15	30	40
КПТ, мм рт.ст.	Ішемія-реперфузія	63,03 ±5,51	67,6 ±6,71	81,35 ±7,16*	77,84 ±6,57*	80,16 ±7,88*	80,79 ±8,35*
	Активация SUR + ішемія-реперфузія	59,93 ±5,54	53,34 ±6,08	62,44 ±7,22	62,31 ±6,9	62,91 ±6,68	63,41 ±6,58
Коронарний протік, мл хв ⁻¹	Ішемія-реперфузія	12,12 ±1,04	12,24 ±1,1	12 ±1,07	12,2 ±1,08	12,16 ±0,97	11,84 ±1,02
	Активация SUR + ішемія-реперфузія	12,07 ±0,24	12,34 ±0,23	12,32 ±0,24	12,3 ±0,21	12,28 ±0,21	12,26 ±0,18
Систолічний тиск у лівому шлуночку, мм рт.ст.	Ішемія-реперфузія	70,99 ±6,43	59,74 ±4,76	67,22 ±7,55	61,03 ±7,35	64,46 ±7,72	65,3 ±8,62
	Активация SUR + ішемія-реперфузія	56,06 ±3,45	49,2 ±2,7	57,76 ±3,28	53,51 ±1,93	55,38 ±2,13	55,15 ±2,03
Тиск, що розвивається у лівому шлуночку, мм рт.ст.	Ішемія-реперфузія	62,24 ±7,14	21,64 ±4,41*	13,7 ±4,84*	18,39 ±5,61*	26,75 ±5,03*	32,01 ±5,02*
	Активация SUR + ішемія-реперфузія	45,92 ±4,31	20,26 ±4,44*	9,74 ±2,89*	18,6 ±2,9*	32,69 ±4,2*	34,03 ±3,48*
КДТ у лівому шлуночку, мм рт.ст.	Ішемія-реперфузія	8,75 ±1,74	38,1 ±4,76*	53,52 ±7,5*	42,64 ±4,28*	37,71 ±3,86*	33,29 ±5,42*
	Активация SUR + ішемія-реперфузія	10,14 ±1,47	28,95 ±3,66*	48,02 ±5,4*	34,91 ±3,58*	22,69 ±5,0*	21,12 ±4,3*
Частота серцевих скорочень, хв ⁻¹	Ішемія- реперфузія	153,14 ±10,99	153,43 ±9,39	153,14 ±9,13	159,43 ±10,54	160,86 ±12,07	159,71 ±13,69
	Активация SUR + ішемія-реперфузія	176 ±10,44	135 ±11,5*	145,5 ±8,62*	157,33 ±10,52	147,33 ±13,86	150 ±13,85

Примітка. * P<0,05 – вірогідність порівняно з вихідними значеннями.

Таблиця 4.6

Вплив активації SUR-рецепторів флокаліном-ЛІ (у %) на відновлення функції ішемізованого серця морської свинки під час реперфузії. За вихідне значення прийнято 100%, (n=12, M \pm m), *P<0,05 – порівняно з контролем

Показник	Тип експерименту	Реперфузія, хв				
		1	5	15	30	40
КПТ	Ішемія-реперфузія	107,25 \pm 8,62	129,07 \pm 7,63	123,5 \pm 6,33	127,17 \pm 7,88	128,17 \pm 7,38
	Активация SUR + ішемія-реперфузія	89 \pm 3,88*	104,19 \pm 3,9*	103,97 \pm 3,13*	104,97 \pm 3,48*	105,81 \pm 3,64*
Коронарний протік	Ішемія-реперфузія	100,99 \pm 0,56	99,01 \pm 1,03	100,66 \pm 0,75	100,33 \pm 1,13	97,69 \pm 0,86
	Активация SUR + ішемія-реперфузія	102,24 \pm 0,84	102,07 \pm 0,99	101,91 \pm 0,9	101,74 \pm 0,93	101,57 \pm 0,88*
Систолічний тиск у лівому шлуночку	Ішемія-реперфузія	84,15 \pm 5,6	94,69 \pm 8	85,97 \pm 8,03	90,8 \pm 6,5	91,98 \pm 7,17
	Активация SUR + ішемія-реперфузія	87,78 \pm 7,92	103,03 \pm 6,62	95,45 \pm 5,97	98,79 \pm 7,23	98,38 \pm 6,81
Тиск, що розвивається у лівому шлуночку	Ішемія-реперфузія	34,77 \pm 6,1	22,01 \pm 5,56	29,55 \pm 5,24	42,99 \pm 3,54	51,43 \pm 3,18
	Активация SUR + ішемія-реперфузія	44,12 \pm 11,0	21,21 \pm 9,14	40,51 \pm 9,24	71,19 \pm 11,07*	74,11 \pm 9,49*
Частота серцевих скорочень	Ішемія-реперфузія	100,19 \pm 3,7	100 \pm 2,7	103,93 \pm 5,1	105,04 \pm 2,81	104,29 \pm 6,91
	Активация SUR + ішемія-реперфузія	76,7 \pm 6,23*	82,67 \pm 7,22*	89,39 \pm 4,42	83,71 \pm 6,44*	85,23 \pm 7,35*

Якщо в контрольних дослідах з початком реперфузії КПТ стрімко зростав, досягаючи на п'ятій хвилині максимальних значень (збільшення на 29%), то в експериментах з активацією SUR водночас він відновлювався до вихідного рівня та залишався близьким до нього протягом усієї реперфузії. Дещо збільшеним був і протік коронарних судин.

За стимуляції SUR суттєво зменшувалися порушення ритму (рис. 4.7 а).

Кількість реперфузійних екстрасистол на 1-шу, 5-ту, 15-ту, 30-ту і 40-ву хвилини реперфузії в експериментах з активацією цих рецепторів була нижча порівняно з контролем у 3,2; 3,1; 3,07; 1,8 та 2,6 рази відповідно ($n=11$, для всіх значень $P<0,05$) [87].

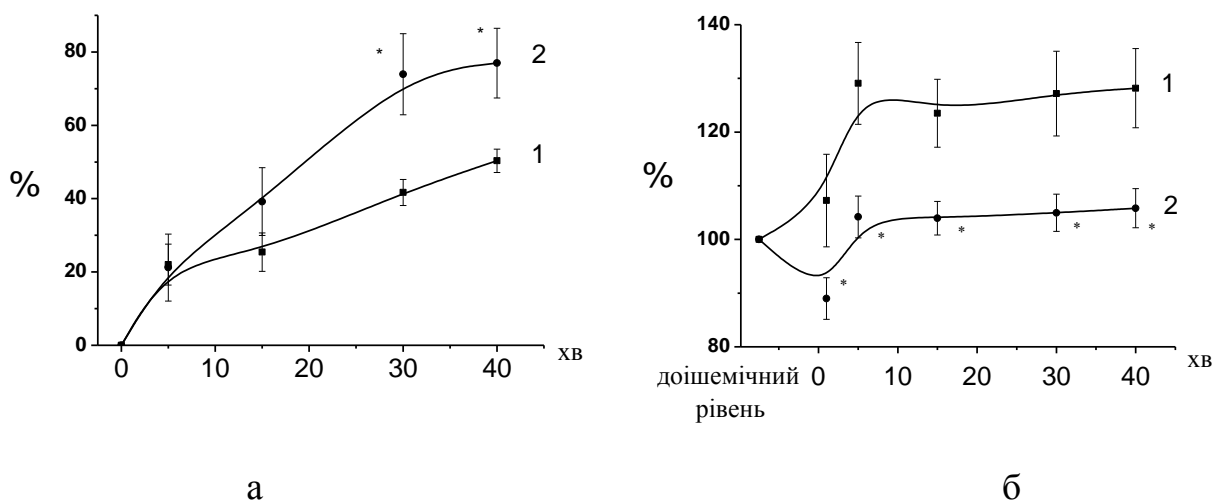


Рис.4.6 Вплив стимуляції SUR флокаліном-Л (5 мкмоль/л) на відновлення тиску, що розвивається у лівому шлуночку (а) та КПТ (б) під час реперфузії ішемізованого серця; за 100% прийнято вихідне значення тиску; 1 – ішемія-реперфузія; 2 – активація SUR та ішемія-реперфузія, * $P<0,05$ – порівняно з контрольними (ішемія-реперфузія) значеннями

Слід зауважити, що під час реперфузії ішемізованого серця стимуляції SUR дещо зменшує частоту серцевих скорочень (рис. 4.7 б, табл. 4.5 та 4.6).

Таким чином, активація SUR-рецепторів K_{ATP} -каналів суттєво поліпшувала відновлення функції ішемізованого міокарда під час реперфузії. Зокрема, таких показників скоротливої активності серця як швидкість відновлення скорочень ішемізованого серця з початку реперфузії, відновлення систоличного тиску та тиску, що розвивається у лівому шлуночку. Значним чином попереджувалися підвищення рівня КДТ у лівому шлуночку, вазоконстрикція коронарних судин та розвиток реперфузійних порушень ритму [87].

Показано, що в нормальному відновленні роботи ішемізованого серця приймають участь K_{ATP} -канали як мітохондріальної, так і сарколемальної

мембрани: перші, в більшій мірі відповідають за відновлення скоротливої активності міокарда, другі, в основному, за коронарний кровообіг. Отже, введення флокаліну зменшує ішемічно-реперфузійні пошкодження міокарда та сприяє збереженню нормальної функції серця [36, 87, 89, 97, 538].

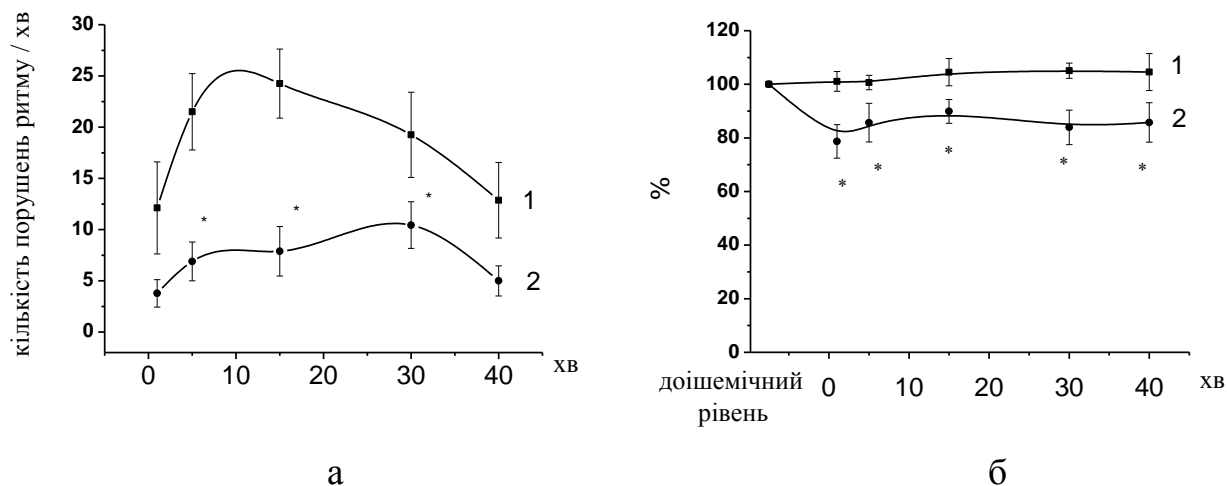


Рис. 4.7 Вплив стимуляції SUR флокаліном-Л (5 мкмоль/л) на кількість екстрасистол за одну хвилину (а) та ЧСС (б) під час реперфузії ішемізованого серця; за 100% (для б) прийнятий доішемічний рівень ЧСС; 1 – ішемія-реперфузія; 2 – стимуляції SUR та ішемія-реперфузія; * $P < 0,05$ – порівняно з контрольними (ішемія-реперфузія) значеннями

4.2. Дослідження кардіопротекторної дії стимуляції SUR-рецепторів при гострому експериментальному інфаркті міокарда

4.2.1. Зміна показників кардіогемодинаміки.

4.2.1.1 Кардіопротекторні ефекти помірної стимуляції SUR-рецепторів субстанцією флокаліну.

На анестезованих собаках було проведено дві серії експериментів з регіональною ішемією міокарда (90 хв) та наступною реперфузією (180 хв), в яких визначали показники кардіогемодинаміки без активації SUR-рецепторів (контрольна серія, $n=11$) та при їх помірній стимуляції флокаліном-С ($n=7$).

Останній вводили внутрішньовенно за 10 хвилин до ішемії в дозі 0,1 мг/кг, яка практично не змінювала параметри гемодинаміки за умов нормоксії. Результати показників кардіогемодинаміки представлені в таблиці 4.7 [29, 88, 94, 493-495].

Таблиця 4.7

Вплив помірної стимуляції SUR флокаліном-С на показники кардіогемодинаміки (в % від вихідного рівня) при ішемії та реперфузії міокарда, ($M \pm m$, $n=18$)

Показник в %	ішемія, хв				реперфузія, хв				
	10	30	60	90	10	30	60	120	180
CAT									
I-P	-6,1 $\pm 3,2$	1,48 $\pm 2,84$	-3,29 $\pm 4,43$	1,0 $\pm 3,58$	11,79 $\pm 0,99$	6,55 $\pm 1,21$	0,89 $\pm 1,83$	-3,54 $\pm 3,47$	-1,5 $\pm 2,4$
SUR+I-P	-4,9 $\pm 6,3$	-15,32 $\pm 5,9^*$	-4,4 $\pm 6,2$	-9,5 $\pm 6,7$	-14,26 $\pm 5,1^*$	-13,93 $\pm 7,7^*$	-8,18 $\pm 8,1$	-18,6 $\pm 4,6^*$	-29,2 $\pm 7,1^*$
ТЛШ									
I-P	-10,65 $\pm 4,38$	-3,9 $\pm 2,1$	-9,32 $\pm 3,45$	-3,41 $\pm 3,5$	10,79 $\pm 8,41$	4,24 $\pm 5,82$	-1,18 $\pm 2,3$	-7,03 $\pm 4,71$	-9,32 $\pm 5,28$
SUR+I-P	-5,9 $\pm 1,7$	-4,1 $\pm 3,8$	-6,44 $\pm 4,2$	-7,62 $\pm 4,5$	-8,04 $\pm 4,9^*$	-6,33 $\pm 4,6$	-4,51 $\pm 2,6$	-13,1 $\pm 4,5$	-16,45 $\pm 1,4$
dP/dt _{max}									
I-P	-2,19 $\pm 1,8$	-8,06 $\pm 3,21$	-4,95 $\pm 2,76$	-7,95 $\pm 2,54$	-3,47 $\pm 0,92$	-39,85 $\pm 3,2$	-34,13 $\pm 2,11$	-26,55 $\pm 1,73$	-14,7 $\pm 2,31$
SUR+I-P	-3,82 $\pm 4,1$	-6,42 $\pm 3,8$	-7,06 $\pm 3,3$	-13,06 $\pm 4,5$	-17,84 $\pm 3,3^*$	-19,68 $\pm 4,8^*$	-16,05 $\pm 7,7^*$	-19,48 $\pm 6,4$	-23,63 $\pm 3,2^*$
dP/dt _{min}									
I-P	-7,12 $\pm 3,33$	-7,68 $\pm 3,86$	-9,93 $\pm 4,25$	-18,24 $\pm 5,5$	-21,64 $\pm 6,4$	-20,76 $\pm 8,76$	-33,19 $\pm 5,42$	-26,95 $\pm 7,58$	-30,44 $\pm 7,01$
SUR+I-P	-9,62 $\pm 2,5$	-11,36 $\pm 4,4$	-14,66 $\pm 2,9$	-15,92 $\pm 2,9$	-16,44 $\pm 5,1$	-16,23 $\pm 5,9$	-12,85 $\pm 7,3^*$	-16,95 $\pm 7,9^*$	-16,8 $\pm 7,1^*$
XOK									
I-P	-8,45 $\pm 2,8$	-17,67 $\pm 6,6$	-28,63 $\pm 3,44$	-25,64 $\pm 4,8$	-26,16 $\pm 7,14$	-38,57 $\pm 5,4$	-43,46 $\pm 3,44$	-41,46 $\pm 6,22$	-44,79 $\pm 7,21$
SUR+I-P	17,55 $\pm 13,6^*$	-19,46 $\pm 8,88$	-8,94 $\pm 7,68^*$	-28,67 $\pm 2,45$	-30,96 $\pm 9,04$	-44,64 $\pm 11,83$	-35,12 $\pm 7,27$	-40,48 $\pm 1,86$	-42,26 $\pm 6,13$

Продовження таблиці 4.7

Показник в %	ішемія, хв				реперфузія, хв				
	10	30	60	90	10	30	60	120	180
ЧСС									
I-P	0,65 ±1,73	1,04 ±0,82	2,21 ±4,75	-3,25 ±4,1	4,55 ±1,38	0,65 ±2,75	5,84 ±2,64	16,23 ±1,88	29,87 ±1,71
SUR+I-P	-12,66 ±7,1*	-17,62 ±7,1*	-14,56 ±5,5*	-15,88 ±4,1*	-19,4 ±4,6*	-23,03 ±3,7*	-21,73 ±4,8*	-18,08 ±8,3*	4,33 ±4,6*

Примітки: позначення у табл. 4.7 - 4.11, 5.3, 5.5:

1. * $P < 0,05$ порівняно з контролем (ішемія-реперфузія),
2. I-P – ішемія-реперфузія (контроль),
3. SUR+I-P – активація SUR і наступна ішемія-реперфузія,
4. КПТ – коронарний перфузійний тиск,
5. САТ – системний артеріальний тиск,
6. ТЛШ – тиск у лівому шлуночку,
7. dP/dt – перша похідна тиску у лівому шлуночку,
8. Індекс – індекс скоротливості серця,
9. ХОК – хвилинний об'єм крові,
10. ЗПО – загальний периферичний опір судин,
11. ЧСС – частота серцевих скорочень.

Як полягає з таблиці 4.7, локальна ішемія міокарда з наступною реперфузією суттєво не впливає на САТ і ТЛШ. Скоротлива функція міокарда також суттєво не змінюється під час ішемії, про що свідчить відсутність суттєвих змін показника максимальної швидкості наростання тиску у лівому шлуночку – dP/dt_{\max} . Проте під час реперфузії спостерігається значне зниження даного показника та досягає максимальних значень на 30 хв – $39,85 \pm 3,2\%$ ($P < 0,05$), з незначним відновленням в кінці реперфузії. Показник швидкості зниження тиску у порожнині лівого шлуночка – dP/dt_{\min} , дещо зменшується під час першої години ішемії, проте подальша ішемія та реперфузія призводить до суттєвого зниження,

яке досягає максимального значення на 60-й хвилині реперфузії – $33,19 \pm 5,42\%$ ($P < 0,05$) [29, 88].

Помірна активація SUR-рецептору K_{ATP} -каналів короткотерміново знижувало САТ на 12 % ($P < 0,05$). Під час експериментальної гострої ішемії на тлі стимуляції вищезгаданого рецептора артеріальний тиск практично не змінювався, проте був дещо зниженим на 60-й хвилині ішемії та протягом реперфузії [29, 88].

Систолічний тиск в порожнині лівого шлуночка в експериментах з активацією калієвих каналів під час ішемії та реперфузії практично не змінюється і лише в кінці реперфузії дещо знижується.

Стабільною протягом експерименту з помірною активацією SUR-рецептору залишалася скоротлива функція міокарда (dP/dt_{max}), проте під час реперфузії спостерігалася деяка тенденція до зниження. Слід зауважити, що навіть при цьому реперфузійні значення dP/dt_{max} в експериментах з активацією вищезазначених каналів були кращими ніж в контрольних: зниження від вихідних значень на $19,68 \pm 4,8$ ($P < 0,05$) у порівнянні з $39,85 \% \pm 3,2 \%$ в контролі на 30-ту хвилину, зниження на $16,05 \pm 7,7$ ($P < 0,05$) в порівнянні $34,13 \% \pm 2,11 \%$ в контролі на 60-ту хвилину та зниження на $19,48 \pm 6,4$ в порівнянні $26,55 \% \pm 1,73 \%$ в контролі на 120-ту хвилину реперфузії [29, 88].

Аналогічні зміни при доішемичній помірній активації SUR-рецептору відбувалися з показником dP/dt_{min} – він був зниженим, проте стабільним практично протягом всього експерименту. Водночас навіть при цьому реперфузійні значення dP/dt_{min} були кращими ніж в контрольних: зниження від вихідних значень на $12,85 \pm 7,3$ ($P < 0,05$) у порівнянні з $33,19 \% \pm 5,42 \%$ в контролі на 60-ту хвилину, зниження на $16,95 \pm 7,9$ ($P < 0,05$) в порівнянні $26,95 \% \pm 7,58 \%$ в контролі на 120-ту хвилину та зниження на $16,8 \pm 7,1$ ($P < 0,05$) в порівнянні $30,44 \% \pm 7,01 \%$ в контролі на 180-ту хвилину реперфузії.

Показано, що оклюзія коронарної артерії призводить до прогресивного падіння ХОК протягом всього експерименту. Вперше показано, що помірна активація SUR-рецептору за допомогою внутрішньовенного введення флокаліну-С ($0,1$ мг/кг) призводить до збільшення ХОК на 5-ту хвилину після активації у

середньому на $12,11 \% \pm 9,74 \%$ ($P < 0,05$). З початком ішемії ХОК не знижувався, як в контролі, а навпаки, продовжував наростати і на 10-ту хвилину ішемії був збільшеним у середньому на $17,55 \% \pm 13,6 \%$ ($P < 0,05$) від вихідного рівня. Дещо кращим ніж в контролі він був на 60-ту хвилину ішемії – відбувалося зниження від вихідного рівня у середньому на $8,94 \pm 7,68$ ($P < 0,05$) у порівнянні з $28,63 \% \pm 3,44\%$ в контролі. В подальший період ішемії та реперфузії ХОК в експериментах з активацією SUR практично не відрізняється від контрольних даних [29, 88].

В дослідях з помірною активацією вищезгаданих рецепторів зменшувалася ЧСС, яка набувала вірогідності по відношенню до вихідних даних на кінець ішемії та початок реперфузії та була достовірно меншою по відношенню до контрольних даних протягом всього експерименту. Проте за активації вищезазначених каналів, до кінця реперфузійного періоду вона відновлювалася до вихідного рівня, тоді як в контрольних експериментах, починаючи з 2 години реперфузійного періоду, вона зростала та досягала максимальних значень під кінець реперфузії – посилення на $29,87 \% \pm 1,71 \%$ ($P < 0,05$).

КПТ в контрольних експериментах протягом всього періоду ішемії залишався практично незмінним, проте з початком реперфузії він підвищувався максимально на $22,15 \% \pm 5,86 \%$ ($P < 0,05$) від вихідного рівня на 120-ту хвилину, рис. 4.8. Водночас вперше показано, що в експериментах з помірною активацією SUR-рецепторів K_{ATP} -каналів КПТ під час реперфузії залишається стабільним та близьким до вихідного рівня.

Вперше показано, що як і за умов *in vitro* (дивіться 4.1.1.) активація SUR-рецепторів K_{ATP} -каналів флокаліном-С *in vivo* також зменшує кількість порушень ритму порівняно з контролем при ішемії-реперфузії міокарда. Зокрема, в експериментах з активацією калієвих каналів в період ішемії екстрасистоли взагалі носили поодинокий характер (рис. 4.9). Особливо значне зменшення порушень ритму (майже в одинадцять разів – $1,6 \pm 0,68$ в порівнянні $17,29 \text{ хв}^{-1} \pm 5,81 \text{ хв}^{-1}$ у контролі, $P < 0,05$) відмічалось на 60 хв ішемії та на протязі всього періоду реперфузії [29, 88].

Таким чином, аналіз зміни показників кардіогемодинаміки під час

відтворення гострої ішемії-реперфузії (контрольні експерименти) показав, що ішемія незначним чином впливає на САТ, КПТ, ТЛШ, скоротливу функцію міокарда та ритм, більших змін ці показники зазнають в період реперфузії.

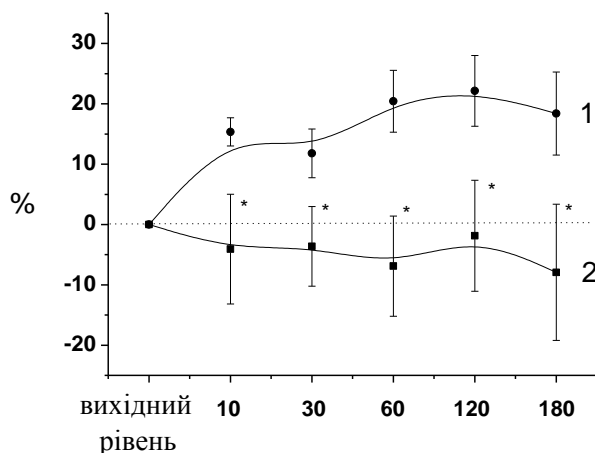


Рис. 4.8 Вплив помірної активації SUR-рецепторів субстанцією флокаліну на перфузійний тиск в коронарних судинах у тварин за умов експериментальної ішемії-реперфузії міокарда у контрольній (ішемія-реперфузія) групі (1) та при активації SUR та ішемії-реперфузії (2); по осі ординат – величина реакції в % від вихідного рівня, 0 – вихідне значення тиску (умови нормоксії), * $P < 0,05$ по відношенню до контрольних значень (ішемія-реперфузія)

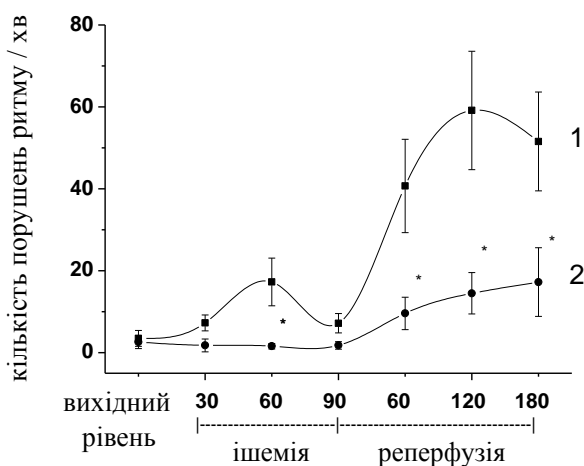


Рис. 4.9 Зменшення порушень серцевого ритму у анестезованих собак in vivo за умов експериментальної ішемії-реперфузії міокарда при помірній активації SUR-рецепторів субстанцією флокаліну (2) порівняно з контрольними (ішемія-реперфузія) тваринами (1), * $P < 0,05$ по відношенню до контролю

Це можна пояснити не дуже великим локальним ушкодженням міокарда (площа зони некрозу по відношенню до площі лівого шлуночка становить 11%, див. пункт 4.2.3) та тим, що ішемія міокарда відтворювалася в умовах досліду близьких до фізіологічних (див. підрозділ 2.10). Вперше показано, що помірна стимуляція SUR-рецепторів та відкривання K_{ATP} -каналів флокаліном-С (0,1 мг/кг) за ішемії не викликало суттєвих змін функції серця, проте дещо зменшувало САТ та ЧСС, і дещо збільшувало ХОК. Проте в період реперфузії слід виділити відмінності: по-перше, в контрольних експериментах відбувалося підвищення КПТ, тоді як активація SUR повністю запобігала цьому – перфузійний коронарний тиск тримався практично на вихідному рівні; по-друге, в контрольних експериментах, досить сильно знижувалася величина максимальної швидкості наростання (dP/dt_{max}) та мінімальної швидкості зниження тиску у порожнині лівого шлуночка (dP/dt_{min}) (починаючи з 30-ї та 60-ї хвилин реперфузії відповідно), тоді як стимуляція SUR запобігала значному зниженню цих показників [36, 88, 493-495].

Отже, проведені дослідження продемонстрували певні особливості розвитку ішемічно-реперфузійного синдрому в умовах стимуляції SUR-рецепторів K_{ATP} -каналів. З нашої точки зору, до позитивних кардіопротекторних впливів слід віднести помірне зниження артеріального тиску, що послаблює навантаження на уражене серце і сприяє збереженню серцевого викиду в перші години ішемії. Важливе значення має також попередження підвищення опору коронарних судин та відносне збереження показників скоротливої активності міокарда в період реперфузії [90, 94, 494, 495] .

4.2.1.2. Вплив активації SUR-рецепторів за допомогою таблеток флокаліну.

Аналіз результатів кардіогемодинаміки контрольних експериментів (гостра ішемія-реперфузія, $n=12$) показав, що ішемія практично не впливає на КПТ та ЗПО (табл. 4.8). Незначним чином зменшуються такі показники, як САТ, dP/dt_{max} ,

dP/dt_{\min} та ЧСС. Дещо сильнішого зниження зазнає ТЛШ – на $14,37\% \pm 1,23\%$ (90хв ішемії, $P<0,05$) та особливо ХОК – на $28,63\% \pm 3,44\%$ (60хв ішемії, $P<0,05$) [78]. Під час реперфузії значно зростає КПТ та ЗПО, особливо на другу і третю годину реперфузії. Продовжує дещо зменшуватися ТЛШ, скоротлива функція міокарда та ХОК. Практично незмінними залишаються САТ та ЧСС (табл. 4.9).

Таблиця 4.8

Вплив стимуляції SUR-рецепторів флокаліном-ЛІ (таблетки, 2,2мг/кг, n=8) на показники кардіогемодинаміки за гострої експериментальної ішемії (90 хв) міокарда у анестезованих собак, в контролі n=12, ($M \pm m$)

Показники	Вихідне значення	ішемія, хв			
		10	30	60	90
КПТ, мм.рт.ст					
I-P	171,3 $\pm 6,8$	165,5 $\pm 10,1$	168 $\pm 12,38$	166,78 $\pm 17,8$	171,66 ± 17
Активация SUR + I-P	181,75 $\pm 17,4$	172 $\pm 16,24$	174 $\pm 16,52$	179,85 $\pm 19,2$	181,43 $\pm 25,8$
САТ, мм.рт.ст					
I-P	140,44 $\pm 9,04$	129,1 $\pm 6,09$	132,18 $\pm 8,29$	128,78 $\pm 9,2$	123,31 $\pm 9,7$
Активация SUR + I-P	130,58 $\pm 7,61$	127,07 $\pm 7,7$	125,41 $\pm 7,14$	125,5 $\pm 5,35$	114,22 $\pm 8,06$
ТЛШ, мм.рт.ст					
I-P	176,7 $\pm 12,4$	154,2 $\pm 12,4$	156,9 $\pm 11,2$	156,4 $\pm 15,2$	151,3 $\pm 13,4$
Активация SUR + I-P	151,55 $\pm 8,04$	144,86 $\pm 7,5$	145,6 $\pm 7,3$	146,9 $\pm 5,6$	141,9 $\pm 5,9$
dP/dt_{\max} , мм.рт.ст/сек					
I-P	2646,14 $\pm 83,89$	2517,44 $\pm 88,35$	2423,73 $\pm 100,68$	2400,57 $\pm 165,11$	2276,18 $\pm 157,05$
Активация SUR + I-P	2454,09 $\pm 153,47$	2351,82 $\pm 141,16$	2292,64 $\pm 150,43$	2313,91 $\pm 154,66$	2162,5 $\pm 133,28$
dP/dt_{\min} , мм.рт.ст/сек					
I-P	2281,17 $\pm 78,15$	2120,74 $\pm 119,36$	2129,26 $\pm 103,09$	1988,11 $\pm 169,86$	1951,46 $\pm 201,89$
Активация SUR + I-P	2211,36 $\pm 193,23$	2093,91 $\pm 153,08$	2053 $\pm 146,84$	2053 $\pm 146,84$	1958,6 $\pm 150,54$

Продовження таблиці 4.8

Показники	Вихідне значення	ішемія, хв			
		10	30	60	90
Індекс скоротливості міокарда, л/сек ⁻¹ · м ² I-P	50,33 ± 2,98	48,87 ± 2,99	48,68 ± 3,09	44,95 ± 3,61	44,93 ± 4,2
Активация SUR + I-P	36,8 ± 2,6	36,1 ± 2,4	37,1 ± 3,09	35,3 ± 2	34,05 ± 2,2
ХОК, літр/хв.					
I-P	1,99 ± 0,31	1,83 ± 0,3	1,62 ± 0,18	1,42 ± 0,23	1,5 ± 0,29
Активация SUR + I-P	1,81 ± 0,34	1,77 ± 0,32	1,66 ± 0,32	2,0 ± 0,34 *	1,42 ± 0,32
ЗПО, Дин/сек · см-5					
I-P	5645 ± 519	5644 ± 442	6527,4 ± 76	7255,2 ± 723	6576,5 ± 372
Активация SUR + I-P	5771 ± 769	5743 ± 141	6043,9 ± 820	5020 ± 379 *	6434,9 ± 813
ЧСС, уд/хв-1					
I-P	162,43 ± 4,73	159 ± 3,74	161,4 ± 5,12	153,6 ± 4,56	150,43 ± 7,8
Активация SUR + I-P	162,33 ± 9,82	158,33 ± 9,4	153 ± 8,82	147 ± 9,68	140 ± 12,56

В експериментах зі стимуляцією SUR-рецепторів за допомогою перорального введення таблеток флокаліну-ЛІ (2,2мг/кг, n=8) показано, що такі показники, як систолічний ТЛШ, dP/dt_{min} і ЧСС практично не відрізняються від контрольних (ішемія-реперфузія без активації). Деякого зниження зазнає САТ (див. табл. 4.8 та 4.9). Щодо інших показників кардіогемодинаміки (КПТ, ЗПО, ХОК та такі показники скоротливості міокарда як швидкість скорочення (dP/dt_{max}) міокарда та серцевий індекс), то активація SUR-рецепторів запобігає їх значним змінам при ішемії-реперфузії міокарда (див. таблиці 4.8 та 4.9). Особливу увагу привертає відсутність вазоконстрикції коронарних судин та попередження підвищення ЗПО (рис. 4.10 і 4.11) [78, 93].

Таблиця 4.9

Вплив стимуляції SUR-рецепторів флокаліном-ЛІ (таблетки, 2,2мг/кг, n=8) на показники кардіогемодинаміки за умов реперфузії (180 хв) міокарда у анастезованих собак, в контролі n=12, (M±m)

Показник	Вихідне значення	реперфузія, хв				
		10	30	60	120	180
КПТ, мм.рт.ст						
I-P	171,3 ± 6,8	192,98 ± 11,19	190,2 ± 9,9	195,31 ± 8,1	201,17 ± 14,9	203,83 ± 14,8
Активация SUR + I-P	181,75 ± 17,4	174,52 ± 15,2	170,24 ± 15,4	173,9 ± 13,4	176,3 ± 13,41	182,2 ± 15,15
САТ, мм.рт.ст						
I-P	140,44 ± 9,04	129,23 ± 10,4	124,41 ± 10,5	121,6 ± 10,01	120,66 ± 9,38	121,68 ± 10,5
Фл +I-P	130,58 ± 7,61	113,05 ± 7,85	110,95 ± 8,88	110,96 ± 11,0	109,92 ± 7,42	105,88 ± 7,24
ТЛШ, мм.рт.ст						
I-P	176,7 ± 12,4	157,5 ± 13,2	150,9 ± 13,08	147,6 ± 12,3	143,7 ± 11,8	137,1 ± 11,4
Активация SUR + I-P	151,55 ± 8,04	138,14 ± 6,1	137,06 ± 5,6	137,06 ± 6,6	131,3 ± 6,06	123,01 ± 5,1
dP/dt _{max} , мм.рт.ст/сек						
I-P	2646,14 ± 83,89	2252,04 ± 200,39	1749,89 ± 177,48	1834,46 ± 184,65	1883,59 ± 209,39	1913,96 ± 173,98
Активация SUR +I-P	2454,09 ± 153,47	2072,5 ± 122,0	2198,6 * ± 157,36	2086,2 ± 120,31	2233,78 ± 163,69	2026,89 ± 144,75
dP/dt _{min} , мм.рт.ст/сек						
I-P	2281,17 ± 78,15	1884,34 ± 204,67	1964,91 ± 241,98	1579,51 ± 143,39	1641,36 ± 190,77	1656,03 ± 142,32
Активация SUR +I-P	2211,36 ± 193,23	1789,9 ± 120,57	1868,4 ± 144,05	1759,1 ± 154,81	1762,22 ± 196,87	1644,5 ± 179,29
Індекс скоротливості міокарда, л/сек ⁻¹ ·м ²						
I-P	50,33 ± 2,98	43,7 ± 4,41	41,38 ± 5,3	42,83 ± 4,31	42 ± 5,39	40,47 ± 4,86
Активация SUR +I-P	36,8 ± 2,6	32,2 ± 1,8	32,5 ± 2,3	33,2 ± 2,5	34,1 ± 2,4	33 ± 2,4

Продовження таблиці 4.9

Показник	Вихідне значення	реперфузія, хв				
		10	30	60	120	180
ХОК, літр/хв						
I-P	1,99 ± 0,31	1,49 ± 0,29	1,2 ± 0,18	1,18 ± 0,2	1,13 ± 0,12	1,1 ± 0,2
Активация SUR +I-P	1,81 ± 0,34	1,58 ± 0,29	1,22 ± 0,19	1,41 ± 0,3	1,41 ± 0,24	1,23 ± 0,27
ЗПО, Дин/сек·см ⁻⁵						
I-P	5645 ± 519	6938,5 ± 776	8294 ± 573	8244,1 ± 407	8542,3 ± 622	8849,5 ± 108
Активация SUR +I-P	5771 ± 769	5724,1 ± 138 *	7275,4 ± 633	6295,6 ± 72 *	6236,6 ± 130,3 *	6886,5 ± 222,7 *
ЧСС, уд×хв ⁻¹						
I-P	162,43 ± 4,73	155,14 ± 4,26	153 ± 6,0	155,14 ± 5,25	162,43 ± 7,26	175,3 ± 10,46
Активация SUR +I-P	162,33 ± 9,82	148,71 ± 10,4	147,38 ± 10,9	154,9 ± 20,13	155,57 ± 20,6	161,14 ± 22,7

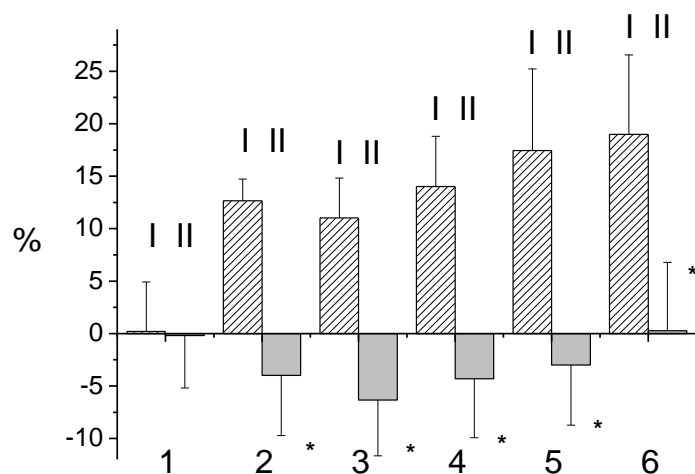


Рис. 4.10 Вплив активації SUR-рецепторів флокаліном-Л на перфузійний тиск в коронарних судинах при ішемії-реперфузії міокарда у контрольній (ішемія-реперфузія) групі (I) та при ішемії-реперфузії за стимуляції SUR-рецепторів (II); 1– 90-та хвилина ішемії, 2-6 – відповідно 10-та, 30-та, 60-та, 120-та та 180-та хвилини реперфузії, по осі ординат – величина реакції в % від вихідного рівня, 0 – вихідне значення тиску (умови нормоксії), *P<0,05 по відношенню до контрольних значень

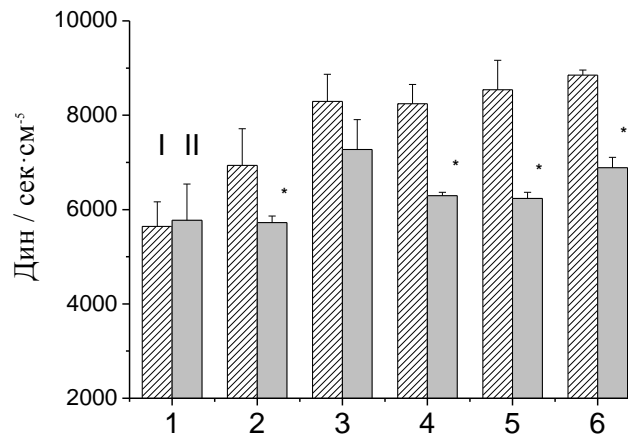


Рис. 4.11 Вплив активації SUR-рецепторів флокаліном-Л на ЗПО при ішемії-реперфузії міокарда у контрольній групі (I) та при ішемії-реперфузії за стимуляції SUR-рецепторів (II); 1– вихідне значення, 2-6 – відповідно 10-та, 30-та, 60-та, 120-та та 180-та хвилини реперфузії, * $P < 0,05$ по відношенню до контрольних значень

Слід зауважити, що КПТ під час реперфузії в експериментах активацією SUR-рецепторів навпаки, є дещо зменшеним, а під кінець ішемії (90хв) та реперфузії (180хв) практично не відрізняється від вихідного рівня ($181,75 \pm 17,41$ мм рт.ст.) та становить у середньому $181,43 \pm 25,86$ мм рт.ст. і $182,22 \pm 15,15$ мм рт.ст. ($n=8$) відповідно. Тоді як в контрольній групі КПТ під час реперфузії значно зростав і на кінець реперфузії (180хв) збільшувався на $18,99\% \pm 7,57\%$ ($P < 0,05$, $n=12$) [78, 93].

Показано, що оклюзія коронарної артерії призводить до прогресивного падіння ХОК, зокрема на $28,64 \pm 4,80$ ($P < 0,05$) та $44,72\% \pm 6,21\%$ ($P < 0,05$) на 60-ту та 180-ту хвилини ішемії та реперфузії відповідно. При активації SUR протягом усього експерименту ХОК є дещо збільшеним ніж в контролі, особливо, на 60-ту хвилину ішемії та за перших двох годин реперфузії (рис. 4.12).

Дещо менших змін в експериментах з активацією SUR-рецепторів K_{ATP} -каналів зазнають і такі показники скоротливої активності міокарда як швидкість (dP/dt_{max}) та індекс скорочення міокарда (рис. 4.13 та 4.14 відповідно) [78, 93].

Зміну показників кардіогемодинаміки за умов експериментальної гострої ішемії-реперфузії міокарда при активації SUR-рецепторів за допомогою

перорального введення флокалін-3д (2,2 мг/кг, n=7) представлено в таблицях 4.10 та 4.11[28].

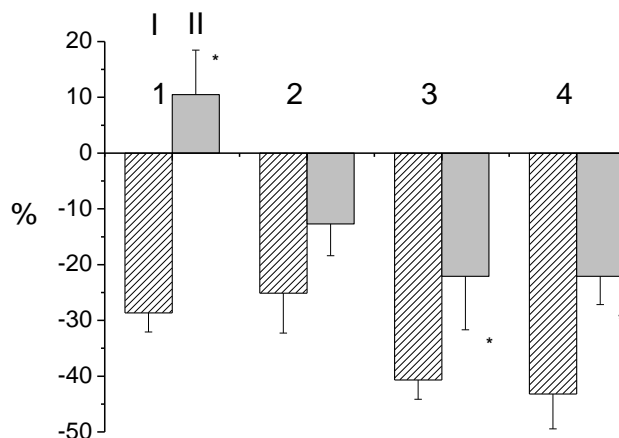


Рис. 4.12 Вплив активації SUR-рецепторів на ХОК при ішемії-реперфузії міокарда у контрольній групі (I) та при ішемії-реперфузії за стимуляції SUR-рецепторів (II); 1 – 60-та хвилина ішемії, 2-4 – відповідно 10-та, 60-та та 120-та хвилина реперфузії, по осі ординат – величина реакції в % від вихідного рівня, 0 – вихідне значення (нормоксія), *P<0,05 по відношенню до контрольних значень

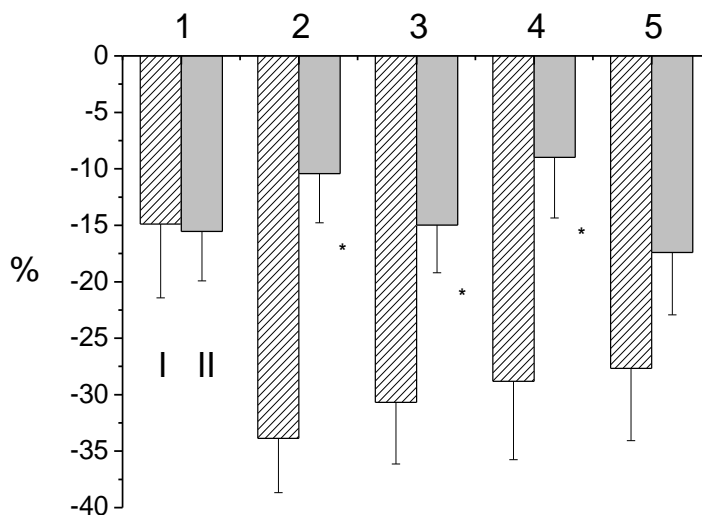


Рис. 4.13 Вплив активації SUR-рецепторів флокаліном-Л на швидкість скорочення (dP/dt_{max}) ішемізованого міокарда під час реперфузії у контрольній (ішемія-реперфузія) групі (I) та при ішемії-реперфузії за стимуляції SUR-рецепторів (II); 1-5 – відповідно 10-та, 30-та, 60-та, 120-та та 180-та хвилини реперфузії, *P<0,05 по відношенню до контрольних значень

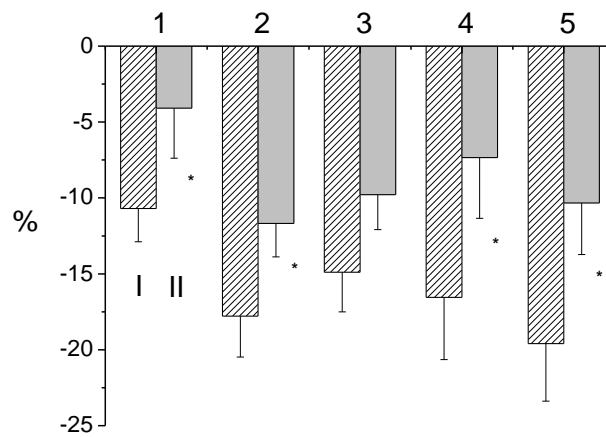


Рис. 4.14 Вплив активації SUR-рецепторів на серцевий індекс за умов експериментальної ішемії-реперфузії міокарда у контрольній (ішемія-реперфузія) групі (I) та при ішемії-реперфузії за стимуляції SUR-рецепторів (II); 1 – 60-та хвилина ішемії, 2-5 – відповідно 30-та, 60-та, 120-та та 180-та хвилини реперфузії, * $P < 0,05$ по відношенню до контрольних значень

Таблиця 4.10

Вплив активації SUR-рецепторів флокаліном-3д (таблетки, 2,2мг/кг, $n=7$) на показники кардіогемодинаміки при експериментальній ішемії міокарда у анастезованих собак, в контролі $n=12$, ($M \pm m$)

Показник	Вихідне значення	ішемія, хв			
		10	30	60	90
КПТ, мм.рт.ст					
I-P	171,3 $\pm 6,8$	165,5 $\pm 10,1$	168 $\pm 12,38$	166,78 $\pm 17,8$	171,66 ± 17
Активация SUR +I-P	175,32 $\pm 10,01$	165,19 $\pm 11,67$	172,59 $\pm 12,72$	170,25 $\pm 14,13$	173,85 $\pm 14,52$
САТ, мм.рт.ст					
I-P	140,44 $\pm 9,04$	129,1 $\pm 6,09$	132,18 $\pm 8,29$	128,78 $\pm 9,2$	123,31 $\pm 9,7$
Активация SUR +I-P	137,99 $\pm 6,53$	123,3 $\pm 5,64$	123,76 $\pm 5,4$	129,48 $\pm 4,28$	117,35 $\pm 6,63$
ТЛШ, мм.рт.ст					
I-P	176,7 $\pm 12,4$	154,2 $\pm 12,4$	156,9 $\pm 11,2$	156,4 $\pm 15,2$	151,3 $\pm 13,4$
Активация SUR +I-P	167,5 $\pm 7,69$	150,47 $\pm 6,58$	153,32 $\pm 6,26$	152,95 $\pm 5,84$	150,17 $\pm 6,7$

Продовження таблиці 4.10

Показник	Вихідне значення	ішемія, хв			
		10	30	60	90
dP/dt _{max} , мм.рт.ст/сек					
I-P	2646,14 ± 83,89	2517,44 ± 88,35	2423,73 ± 100,68	2400,57 ± 165,11	2276,18 ± 157,05
Активация SUR +I-P	2732,5 ± 127,44	2435,94 ± 95,46	2397,59 ± 118,96	2429,5 ± 127,11	2336,47 ± 124,61
dP/dt _{min} , мм.рт.ст/сек					
I-P	2281,17 ± 78,15	2120,74 ± 119,36	2129,26 ± 103,09	1988,11 ± 169,86	1951,46 ± 201,89
Активация SUR +I-P	2347,17 ± 101,44	2219,41 ± 130,47	2247,18 ± 126,3	2102,31 ± 110,3	2089,93 ± 126,26
ХОК, літр/хв.					
I-P	1,99 ± 0,31	1,83 ± 0,3	1,62 ± 0,18	1,42 ± 0,23	1,5 ± 0,29
Активация SUR +I-P	1,82 ± 0,25	1,57 ± 0,32	1,56 ± 0,26	1,81 ± 0,37	1,37 ± 0,24
ЗПО, Дин/сек·см ⁻⁵					
I-P	5645 ± 519	5644 ± 442	6527,4 ± 76	7255,2 ± 723	6576,5 ± 372
Активация SUR +I-P	6065,5 ± 522,4	6282,8 ± 778	6346,7 ± 564,5	5722,3 ± 670	6852,6 ± 757,4
ЧСС, уд×хв ⁻¹					
I-P	162,43 ± 4,73	159 ± 3,74	161,4 ± 5,12	153,6 ± 4,56	150,43 ± 7,8
Активация SUR +I-P	181,67 ± 9,21	164,33 ± 6,14	160,47 ± 5,91	155,21 ± 7,05	155 ± 75 ± 9,91

Аналогічно до вище описаних результатів активація SUR-рецепторів флокаліном-Зд порівняно з контрольними (ішемія-реперфузія без активації калієвих каналів) значеннями практично не змінює такі показники, як систолічний ТЛШ та ЧСС (див. табл. 4.10 та 4.11). Остання зменшується по ходу всього експерименту і лише на кінець реперфузії (180 хв реперфузії) в контрольних експериментах вона дещо збільшується. Слід зауважити, що в експериментах де початкова ЧСС відносно середнього вихідного рівня була дещо збільшена, активація цих каналів призводила до її зменшення, а в експериментах де

початкова ЧСС була дещо зменшена викликала, навпаки, її збільшення, що може вказувати на регуляторну властивість цих каналів, що до нормалізації серцевих скорочень [28].

Таблиця 4.11

Вплив активації SUR-рецепторів флокаліном-3д (таблетки, 2,2мг/кг, n=7) на показники кардіогемодинаміки за реперфузії ішемізованого міокарда у анастезованих собак, в контролі n=12, (M±m)

Показник	Вихідне значення	реперфузія, хв				
		10	30	60	120	180
КПТ, мм.рт.ст						
I-P	171,3 ± 6,8	192,98 ±11,19	190,2 ± 9,9	195,31 ± 8,1	201,17 ± 14,9	203,83 ± 14,8
Активация SUR +I-P	175,32 ± 10,01	168,35 ± 12,63	164,77 * ± 12,47	168,88 * ± 12,44	173,44 * ± 12,3	177,49 * ± 13,14
CAT, мм.рт.ст						
I-P	140,44 ± 9,04	129,23 ± 8,4	124,41 ± 8,5	121,6 ± 8,01	120,66 ± 9,38	121,68 ± 8,5
Активация SUR +I-P	137,99 ± 6,53	117,06 ± 6,83	118,75 ± 6,1	110,41 ± 5,02	111,09 ± 5,85	102,61 ± 6,11
ТЛШ, мм.рт.ст						
I-P	176,7 ± 12,4	157,5 ± 13,2	150,9 ± 13,08	147,6 ± 12,3	143,7 ± 11,8	137,1 ± 11,4
Активация SUR +I-P	167,5 ± 7,69	144,98 ± 7,78	145,31 ± 7,23	140,49 ± 7,6	140,35 ± 7,68	133,13 ± 7,26
dP/dt _{max} , мм.рт.ст/сек						
I-P	2646,14 ± 83,89	2252,04 ± 200,39	1749,89 ± 177,48	1834,46 ± 184,65	1883,59 ± 209,39	1913,96 ± 173,98
Активация SUR +I-P	2732,5 ± 127,44	2017,5 ± 101,01	2144,29* ± 141,86	2046,79 ± 130,44	2192,42* ± 135,7	2107,75 ± 139,3
dP/dt _{min} , мм.рт.ст/сек						
I-P	2281,17 ± 78,15	1884,34 ± 204,67	1964,91 ± 241,98	1579,51 ± 143,39	1641,36 ± 190,77	1656,03 ± 142,32
Активация SUR +I-P	2347,17 ± 101,44	1932,36 ± 129,41	1999,29 ± 153,6	1922,79 ± 162,28	1979,75 ± 213,49	1921,42* ± 210,15

Продовження таблиці 4.11

Показник	Вихідне значення	реперфузія, хв				
		10	30	60	120	180
ХОК, літр/хв.						
I-P	1,99 ± 0,31	1,49 ± 0,29	1,2 ± 0,18	1,18 ± 0,2	1,13 ± 0,12	1,1 ± 0,2
Активация SUR +I-P	1,82 ± 0,25	1,34 ± 0,23	1,15 ± 0,15	1,36 ± 0,24	1,23 ± 0,19	1,18 ± 0,24
ЗПО, Дин/сек·см-5						
I-P	5645 ± 519	6938,5 ± 1776	8294 ± 573	8244,1 ± 407	8542,3 ± 422	8849,5 ± 108
Активация SUR +I-P	6065,5 ± 522,4	6988,7 ± 893,1	8260,9 ± 505,9	6494,7 * ± 793	7225,4 * ± 487,6	6956,6 * ± 1072,3
ЧСС, уд×хв-1						
I-P	162,43 ± 4,73	155,14 ± 4,26	153 ± 6,0	155,14 ± 5,25	162,43 ± 7,26	175,3 ± 10,46
Активация SUR +I-P	181,67 ± 9,21	150,42 ± 11,45	163,33 ± 8,64	163,25 ± 13,98	165,4 ± 15,13	169,8 ± 16,15

Водночас при активації SUR значно покращується відновлення функції ішемізованого серця під час реперфузії (табл. 4.11), дещо знижується САТ (рис. 4.15) та попереджується вазоконстрикція коронарних судин під час реперфузії ішемізованого серця (рис. 4.16). Слід зауважити, що КПТ під час реперфузії в експериментах з активацією SUR навпаки, була дещо зменшеною. А на момент закінчення ішемії (90 хв) та реперфузії (180 хв) практично не відрізнялася від вихідного рівня (див. табл. 4.8 - 4.11). Тоді як в контрольній групі під час реперфузії значно зростав [28].

Як і в попередніх експериментах, активація SUR K_{ATP} -каналів флокаліном-Зд дещо попереджує падіння ХОК (рис. 4.17) та зростання ЗПО (рис. 4.18).

Дещо кращими при активації SUR-рецепторів K_{ATP} -каналів були також і показники скоротливості міокарда: зокрема, швидкість скорочення (dP/dt_{max}) та швидкість розслаблення (dP/dt_{min}) лівого шлуночка (рис. 4.19) [28, 90].

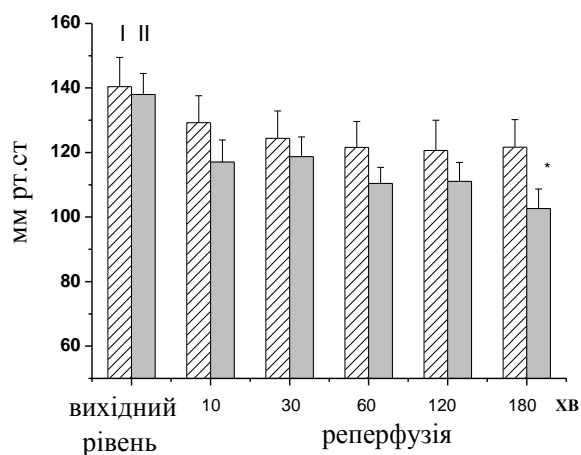


Рис. 4.15 Вплив активації SUR-рецепторів флокаліном-3д на системний артеріальний тиск за умов експериментальної ішемії-реперфузії міокарда у контрольній (ішемія-реперфузія) групі (I) та при ішемії-реперфузії за стимуляції SUR-рецепторів (II); * $P < 0,05$ по відношенню до контрольних значень

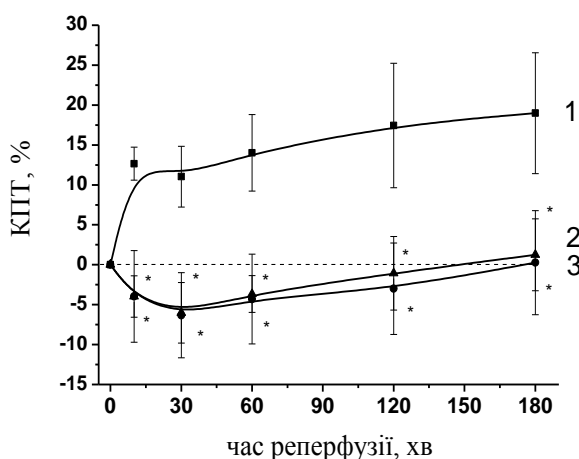


Рис. 4.16 Вплив активації SUR-рецепторів флокаліном-Л (3) та -3д (2) на КПТ під час реперфузії ішемізованого міокарда, 1 – контроль (ішемія-реперфузія без активації SUR), по осі ординат – величина реакції в % від вихідного рівня; 0 по осі ординат – вихідне значення (умови нормоксії), * $P < 0,05$ по відношенню до контрольних значень

Таким чином, дослідження впливу активації SUR-рецепторів K_{ATP} -каналів на зміни показників кардіогемодинаміки під час ішемії-реперфузії міокарда в анастезованих собак *in vivo* дозволило виявити певні кардіопротекторні

механізми. Зокрема, помірне зниження артеріального тиску, що послаблює навантаження на уражене серце і сприяє збереженню серцевого викиду в перші години ішемії, попередження реперфузійного підвищення загальнопериферичного опору та опору коронарних судин серця, та відносно збереження показників скоротливої активності міокарда в період реперфузії [28, 78, 90, 93].

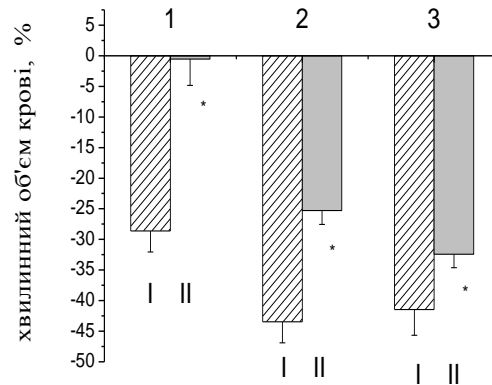


Рис. 4.17 Вплив активації SUR-рецепторів флокаліном-3д (II) на ХОК за умов ішемії-реперфузії міокарда; I – контроль (ішемія-реперфузія без активації SUR), 1 – 60-та хвилина ішемії, 2 і 3 – 60-та та 120-та хвилини реперфузії відповідно, по осі ординат – величина реакції в % від вихідного рівня, 0 – вихідне значення тиску (умови нормоксії), * $P < 0,05$ по відношенню до контрольних значень

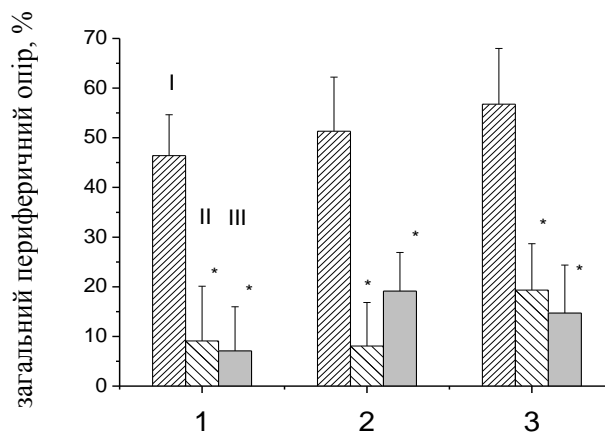


Рис. 4.18 Вплив активації SUR-рецепторів флокаліном-Л (II) та флокаліном-3д (III) на загальний периферичний опір судин при гострій ішемії-реперфузії міокарда; I – контроль (ішемія-реперфузія без активації SUR), 1-3 – 60-та, 120-та і 180-та хвилини реперфузії відповідно, по осі ординат – величина реакції в % від вихідного рівня, * $P < 0,05$ по відношенню до контрольних значень

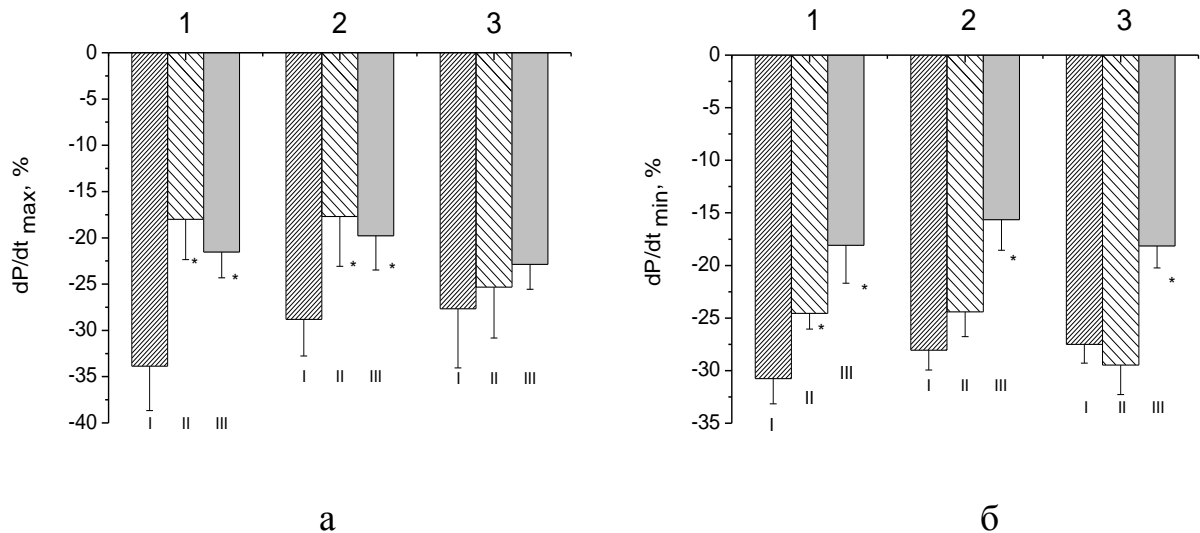


Рис.4.19 Вплив активації SUR-рецепторів флокаліном-Л (II) та флокаліном-Зд (III) на швидкість скорочення (а) та розслаблення (б) міокарда під час реперфузії ішемізованого серця; I – контроль (ішемія-реперфузія без активації SUR), для (а) 1-3 – 30-та, 120-та і 180-та хвилини, для (б) 1-3 – 60-та, 120-та і 180-та хвилини реперфузії відповідно, по осі ординат – величина реакції в % від вихідного рівня, * $P < 0,05$ – порівняно з контрольними значеннями

4.2.2. Біохімічні дослідження різних зон міокарда та плазми крові.

У дослідях на анестезованих собаках з відтворенням експериментальної ішемії (90хв) та реперфузії (180хв) вивчено зміни біохімічних показників в плазмі крові та різних ділянках серця за активації SUR-рецепторів калієвих каналів. Для визначення біохімічних параметрів протягом експерименту проводився багаторазовий відбір артеріальної крові у собак обох – контрольній і дослідній груп та по закінченню реперфузії у них з трьох ділянок лівого шлуночка – інтактної зони, зони ризику та зони некрозу вилучалися шматки міокарда.

4.2.2.1. Зміна біохімічних параметрів плазми крові при ішемії-реперфузії міокарда за активації SUR-рецепторів субстанцією флокаліну.

Проведено дві серії експериментів – контрольну (ішемія-реперфузія, $n=11$) і дослідну ($n=7$), в якій створювали регіональну ішемію міокарда з наступною

реперфузією при активації SUR-рецепторів за допомогою внутрішньовенного введення флокаліну-С в дозі 0,1 мг/кг (яка практично не змінювала параметри гемодинаміки) за 10 хвилин до початку ішемії [36, 85, 94, 492, 494, 495].

Потужним фактором ішемічно-реперфузійних пошкоджень є активація ПОЛ, що призводить до накопичення вільнорадикальних сполук, які реагують з ЖК мембран, ініціюють в них перекисні процеси і, відповідно, утворюють нові радикали, які ведуть до поглиблення пошкодження [254, 408, 433]. Поряд з цим, за ішемії відбувається зниження активності ферментів АОС, що робить міокард особливо вразливим до збільшення вільнорадикальних реакцій при відновленні вмісту кисню при реперфузії ішемізованого міокарда [370, 514]. Інтенсивність вільнорадикальних реакцій визначалися за допомогою H_2O_2 – індукованої хемілюмінесценції (ХЛ) в плазмі крові. Вимірювалися слідувачі кінетичні параметри ХЛ: загальна світлосума реакції за 5 хв ($\Sigma 5$), інтенсивність швидкого спалаху (I_0) та швидкість затухання ХЛ (I_5). Показано, що ішемія-реперфузія у собак спричиняє збільшення утворення АФК, про що свідчить значна інтенсифікація ХЛ, збільшення продукції H_2O_2 (рис. 4.20) та збільшення пулів кінцевого продукту ПОЛ – малонового діальдегіду (рис. 4.21).

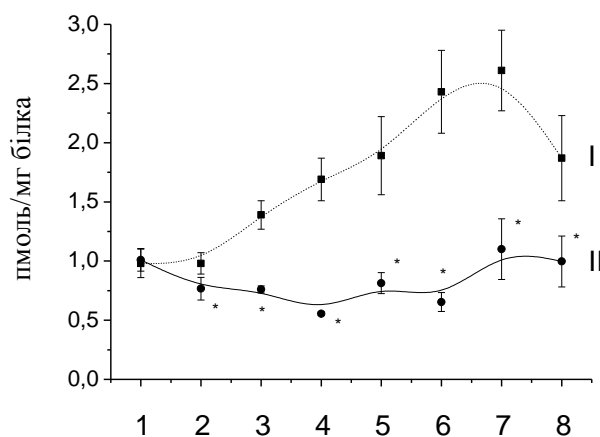


Рис. 4.20 Зміни вмісту H_2O_2 в плазмі крові при ішемії-реперфузії міокарда у контрольній групі (I) та при помірній активації SUR-рецепторів (II); 1 – вихідні показники (нормоксія); 2 – вміст H_2O_2 при стимуляції SUR; 3-5 – 1-ша, 60-та і 90-та хвилини ішемії, 6-8 – 60-та, 120-та і 180-та хвилини реперфузії, * $P < 0,05$ порівняно з контрольними значеннями.

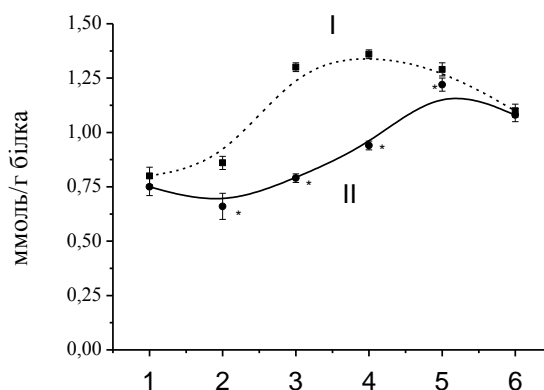


Рис. 4.21 Зміни вмісту в плазмі крові малонового діальдегіду при ішемії-реперфузії міокарда у контрольній групі (I) та при помірній активації SUR-рецепторів (II); 1 – вихідні показники (нормоксія); 2 і 3 – 1-ша і 90-та хвилини ішемії, 4-6 – 60-та, 120-та і 180-та хвилини реперфузії, * $P < 0,05$ порівняно з контрольними значеннями

Таке посилення процесів ПОЛ супроводжувалося одночасним зниженням антиоксидантного потенціалу, а саме пригніченням активності ключових ферментів АОС організму – каталази (рис. 4.22 а) та СОД, (рис. 4.22 б) [29, 492]. У наших дослідках вперше показано, що помірна активація SUR-рецепторів K_{ATP} -каналів за допомогою внутрішньовенного введення 0,1 мг/кг флокаліну-С істотно знижує як інтенсивність ПОЛ (див. рис. 4.21), так і попереджує зменшення активності каталази та СОД (див. рис. 4.22). Слід відмітити, що активація цих каналів зменшує вміст H_2O_2 в плазмі крові тварин вже перед ішемією – до $0,77 \pm 0,095$ у порівнянні з $1,01 \pm 0,095$ пмоль/мг білка за вихідних умов. Аналогічне зменшення вмісту перекису водню за активації цих каналів було зафіксовано протягом всієї ішемії та наступної реперфузії. Проте починаючи з третьої години останньої його вміст практично не відрізнявся від вихідних умов (див. рис. 4.20). Водночас у контрольних експериментах (при моделюванні ішемії-реперфузії без активації SUR) вміст H_2O_2 зростав під час ішемії та особливо збільшувався протягом реперфузії (див. рис. 4.20) [29, 85]. Таким чином, помірна активація SUR-рецепторів, що практично не змінює параметри гемодинаміки, зменшує

вміст H_2O_2 в плазмі крові тварин як під час ішемії (на 67,16% на 60-ту хвилину, $P<0,05$), так і під час реперфузії (на 73,25% на 60-ту хвилину реперфузії, $P<0,05$).

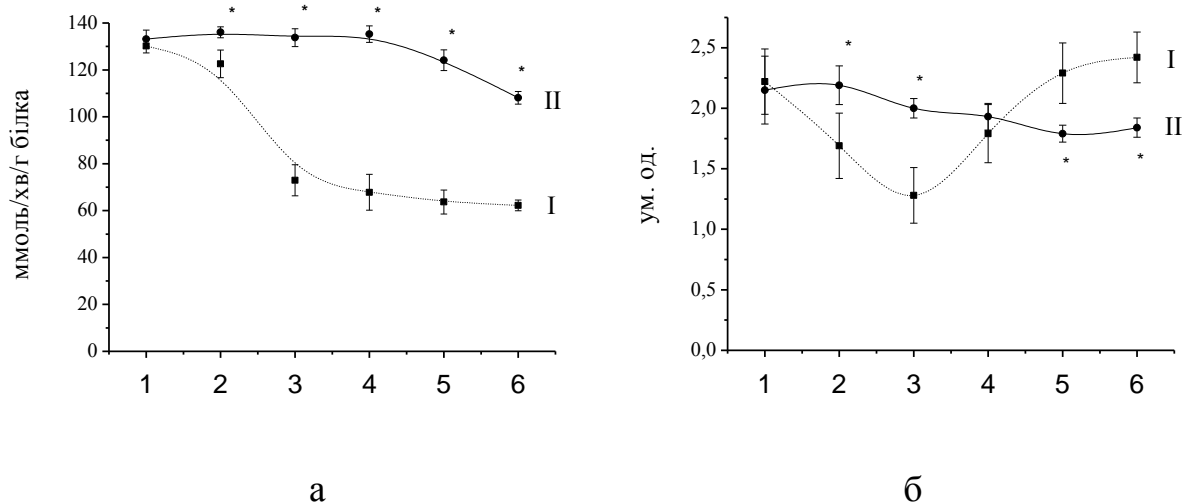


Рис. 4.22 Зміни активності ферментів каталази (а) та СОД (б) в плазмі крові при ішемії-реперфузії міокарда у контрольній групі (І) та при помірній активації SUR-рецепторів (ІІ); 1 – вихідні показники (нормоксія); 2 і 3 – 1-ша і 90-та хвилини ішемії, 4-6 – 60-та, 120-та і 180-та хвилини реперфузії, * $P<0,05$ порівняно з контрольними значеннями

Активність ферменту каталази при стимуляції вищезгаданих рецепторів K_{ATP} -каналів на відміну від контролю, протягом усього експерименту, була на високому рівні (рис. 4.22 а). Активність ферменту СОД за активації SUR протягом усього експерименту, за виключенням останньої години реперфузії, не зазнавала вірогідних змін (див. рис. 4.22 б), що може свідчити про сприяння відкривання вищезгаданих мембранних структур збереженню балансу в системі ПОЛ/АОС.

Підтвердженням цьому можуть бути і показники індукованої ХЛ плазми крові у динаміці ішемії-реперфузії (табл. 4.12). В контрольних експериментах (ішемія-реперфузія) усі кінетичні параметри ХЛ значно зростали. На 90 хв ішемії загальна світлосума ХЛ за 5 хв реєстрації (Σ_5) та кінцеве значення інтенсивності випромінювання через 5 хв (I_5), за величиною якого можна судити про швидкість затухання ХЛ та опосередковано про стан АОС збільшувалися від вихідного рівня (нормоксії) відповідно у 2,4 та 1,57 рази ($P<0,05$).

Таблиця 4.12

Вплив помірної активації SUR-рецепторів на показники хемолюмінісценції плазми крові собак в різні періоди ішемії-реперфузії; ($M \pm m$)

Показник	Нормоксія	Ішемія, 90 хв	Реперфузія		
			60 хв	120 хв	180 хв
Амплітуда швидкого спалаху ХЛ, (I_0 , мВ)					
Ішемія-реперфузія	62,83±7,7	181,2 ± 30,1**	297,7 ± 42,2**	281,14 ± 13,3**	293,5 ± 10,2**
Активация SUR + ішемія-реперфузія	78,85 ±7,5	173,11 ± 24,05 **	272,85 ± 48,70 **	240,42 ± 17,21 */**	243,12 ± 16,8 */**
Загальна світлосума ХЛ за 5 хв реєстрації (Σ_5 , мВ/с)					
Ішемія-реперфузія	17872,82 ± 1739,5	42841,10 ± 1917,84**	48307,95 ± 3800,8**	50866,15 ± 2739,06**	53585,45 ± 2180,46**
Активация SUR + ішемія-реперфузія	17808,35 ± 809,66	32455,32 ± 3542,15*/**	46767,88 ± 5317,74**	43826,53 ± 2125,84*/**	44370,04 ± 2423,3*/**
Кінцеве значення інтенсивності випромінювання через 5 хв (I_5 , мВ)					
Ішемія-реперфузія	45,1±1,4	70,87 ± 6,9**	81,0 ± 3,3**	83,4 ± 3,1**	102,7 ± 3,1**
Активация SUR + ішемія-реперфузія	39,11 ±3,7	62,70 ±5,9 **	74,37 ± 3,68 **	71,25 ± 3,73 */**	90,0 ± 3,89 */**

Примітки:

1. * $P < 0,05$ по відношенню до контрольних значень (ішемія-реперфузія);
2. ** $P < 0,05$ по відношенню до вихідних значень (нормоксії).

Реперфузія призводила до ще більш інтенсивного зростання перекисних процесів. Так, на 60хв реперфузії приріст Σ_5 становив 170,2 % ($P < 0,05$), а на 120

хв 184,7 % ($P < 0,05$) від вихідного рівня, проте I_5 зростала не так стрімко, так на 60хв збільшувалася на 79,6 % ($P < 0,05$), а на 120 хв на 84,9 % ($P < 0,05$) від вихідного рівня (див. табл. 4.12). Отже, відбувається зростання інтенсивності перекисних процесів у крові, внаслідок порушення балансу між утворенням та інактивацією перекисних ліпідів, яке призводило до їх надлишкового накопичення в процесі ішемії-реперфузії. На підставі змін I_5 можна припустити, що антиоксидантна активність крові за ішемії-реперфузії знижена, але аналізуючи зміни кінетичних параметрів ХЛ очевидно, що зміни ПОЛ залежать і від інших механізмів.

Помірна активація SUR-рецепторів зменшувала підвищення всіх кінетичних показників індукованої ХЛ у плазмі крові при ішемії та наступній реперфузії серця (див. табл. 4.12). Так, за ішемії та активації вищезазначених каналів сумарна інтенсивність ХЛ була меншою ніж у контролі. Якщо на 180 хв реперфузії у контролі показник Σ_5 потроювався в порівнянні вихідного рівня, то при активації SUR-рецепторів калієвих каналів аналогічний показник був меншим на 17,2 % ($P < 0,05$) порівняно з контролем. За умов стимуляції SUR показник I_5 також був меншим як під час ішемії так і при реперфузії (на 120 хв на 14,6 %) порівняно з контролем. Проведені дослідження визначили, що активація вищезгаданого рецептору також знижує показник I_0 (амплітуду швидкого спалаху ХЛ) як під час ішемії так і при реперфузії (на 180 хв на 17,17 %, $P < 0,05$) порівняно з контролем, тобто вона має антиокиснювальний вплив.

Ще одним доказом захисного впливу помірної стимуляції цих рецепторів при ішемії-реперфузії міокарда є зміни вмісту в плазмі крові пулів нітрит- (NO_2^-) та нітрат- (NO_3^-) аніонів. Показано, що їх активація збільшує вміст NO_2^- -аніонів (рис. 4.23) та дещо зменшує вміст NO_3^- -аніонів при ішемії та, особливо, при реперфузії міокарда порівняно з нормоксією та у 3,2 раза на 180-ту хвилину реперфузії в порівнянні до контрольних значень (табл. 4.13) [85]. Адже відомо, що рівень NO_2^- -аніонів у крові може бути показником нормальної роботи системи оксиду азоту.

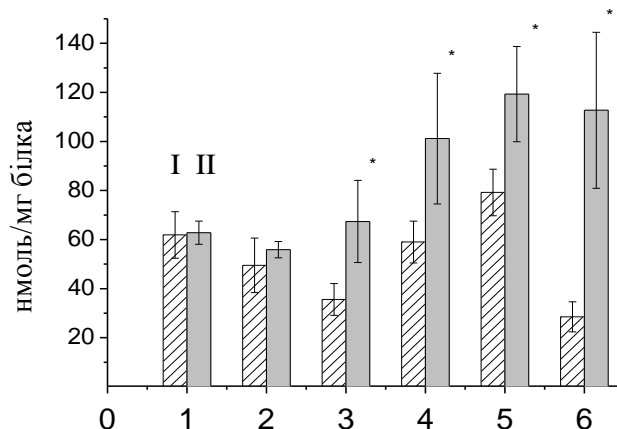


Рис. 4.23 Зміни вмісту в плазмі крові нітрит-аніонів (NO_2^-) при ішемії-реперфузії міокарда у контрольній групі (I) та при помірній активації SUR-рецепторів (II); 1 – вихідні показники (нормоксія); 2 і 3 – 1-ша і 90-та хвилини ішемії, 4-6 – 60-та, 120-та і 180-та хвилини реперфузії, * $P < 0,05$ порівняно з контрольними значеннями

Таблиця 4.13

Вплив помірної активації SUR-рецепторів на показники біохімічних параметрів плазми крові за умов експериментальної ішемії-реперфузії міокарда; ($M \pm m$)

Показник	Нормоксія	Ішемія, хв			Реперфузія, хв		
		10	60	90	60	120	180
NO ₂ ⁻ (пмоль/мг білка)							
Ішемія-реперфузія	61,9 ± 9,5	49,5 ± 11,1	40,6 ±3,6**	35,6 ± 6,5**	59 ±8,5	79,2 ± 9,5	28,5 ± 6,1**
Активация SUR + ішемія-реперфузія	62,8 ± 4,69	55,9 ± 3,3	40,6 ±9,6	67,37 ±16,77*	101,17 ±26,65 ***	119,33 ±19,41 ***	112,7 ± 31,79 ***
NO ₃ ⁻ (нмоль/мг білка)							
Ішемія-реперфузія	31,6 ± 3,2	23,6 ± 3,3**	25,7 ± 1,8	18,8 ± 2,3**	15,7 ± 4**	20,4 ± 6,9	74,5 ±14,2**
Активация SUR + ішемія-реперфузія	25,8 ± 0,9	21,5 ±1,65 **	18,4 ±7,3	16,1 ±1,34 **	17,83 ± 3,3**	20,83 ± 3,7**	23,3 ±2,69 *

Продовження таблиці 4.13

Показник	Нормоксія	Ішемія, хв			Реперфузія, хв		
		10	60	90	60	120	180
Низькомолекулярні нітрозотіоли (пмоль/мг білка)							
Ішемія-реперфузія	10,34 ± 1,5	11,3 ± 1,6	8,8 ± 0,9	7,4 ± 1,1**	12,2 ± 1,7	10,9 ± 1,9	8,5 ± 1,3
Активація SUR + ішемія-реперфузія	9,6 ± 0,38	6,4 ± 1,8**	8,75 ± 0,35	7,67 ± 0,7**	9,53 ± 2,77	10,77 ± 1,77	8,33 ± 2,18
Сечова кислота (нмоль/мг білка)							
Ішемія-реперфузія	1,26 ± 0,08	1,73 ± 0,22	2,83 ± 0,19 **	3,09 ± 0,56 **	12,10 ± 1,16 **	10,12 ± 1,43 **	6,30 ± 0,85**
Активація SUR + ішемія-реперфузія	1,55 ± 0,34	1,67 ± 0,08	1,81 ± 0,35*	1,52 ± 0,49*	1,89 ± 0,9*	1,67 ± 0,31*	2,02 ± 0,58*
Показник продуктів деградації АТФ і ГТФ - ΔE254 (ΔA/мг білка)							
Ішемія-реперфузія	0,27 ± 0,02	0,36 ± 0,07 **	0,43 ± 0,06 **	1,25 ± 0,12 **	3,77 ± 0,52 **	3,45 ± 0,39 **	3,32 ± 0,51**
Активація SUR + ішемія-реперфузія	0,18 ± 0,015	0,82 ± 0,4**	0,27 ± 0,02 *,**	0,39 ± 0,06 *,**	0,37 ± 0,02 *,**	0,39 ± 0,0 *,**	0,31 ± 0,05 *,**
Неорганічний фосфат (нмоль/мг білка)							
Ішемія-реперфузія	24,9 ± 1,3	35,4 ± 4,1**	22,6 ± 14,5	158,2 ± 24,5 **	288,5 ± 49,7 **	203,4 ± 33,2 **	222,23 ± 29,3 **
Активація SUR + ішемія-реперфузія	19,33 ± 1,51	19,8 ± 2,5*	22,05 ± 7,55	18,43 ± 4,99*	20,47 ± 4,23*	23,53 ± 4,88*	21,77 ± 2,5*

Примітки:

1. *P<0,05 по відношенню до контролю;
2. **P<0,05 по відношенню до вихідних значень (нормоксії)

В наших експериментах, під час всього періоду реперфузії при помірній активації SUR-рецепторів вміст NO_2^- був більшим порівняно з вихідним рівнем та контролем (див. табл. 4.13), тоді як в контролі вміст NO_2^- зменшувався під час ішемії. Таким чином, вперше показано, що активація цих рецепторів калієвих каналів не тільки запобігає зменшенню вмісту NO_2^- в плазмі крові тварин при ішемії, але суттєво підвищує його вміст під час реперфузії. Певним чином, виразом кардіопротекторної дії відкривання цих каналів є також практично незмінний вміст NO_3^- , тому що його збільшення може свідчити про збільшення утворення пероксинітриту при взаємодії NO з супероксидом [85].

Низькомолекулярні нітрозотіолі (НМНТ) є донорами молекул оксиду азоту. Зменшений вміст в плазмі крові НМНТ вказує на активне використання молекул NO, тобто рівень оксиду азоту в крові може бути зменшеним, що може призвести до виникнення вазоконстрикцій. В наших експериментах помірна стимуляція SUR практично не впливала на вміст НМНТ (див. табл. 4.13).

Таким чином, практично незмінний вміст низькомолекулярних нітрозотіолів в плазмі крові на протязі всього експерименту та збільшення рівня NO_2^- під час реперфузії може свідчити про підтримання систему оксиду азоту в належному стані та кардіопротекторний вплив активації вищезгаданих рецепторів калієвих каналів клітинних мембран при ішемії-реперфузії міокарда.

Про останнє свідчать інші біохімічні показники плазми крові: вміст сечової кислоти, неорганічного фосфату та сумарних продуктів деградації АТФ і ГТФ – інозину, ксантину і гіпоксантину (E_{254}). Зміна цих показників представлена в таблиці 4.13. Всі вище перераховані показники є маркерами деградації молекул АТФ, що є особливо показовим в умовах ішемії. Неорганічний фосфат утворюється при гідролізі АТФ ($\text{АТФ} \rightarrow \text{АДФ} + \text{P}_i \rightarrow \text{АМФ} + 2 \text{P}_i \rightarrow \text{аденозин} + 3\text{P}_i$). Сечова кислота є кінцевим продуктом деградації молекул АТФ ферментом ксантиноксидазою. В наших експериментах при помірній стимуляції SUR вміст в плазмі крові неорганічного фосфату та сечової кислоти практично не змінювався порівняно з вихідними даними (див. табл. 4.13), що може свідчити про протекторні властивості активації цих рецепторів та інгібування повного

метаболічного перетворення АТФ до сечової кислоти.

Водночас збільшення E_{254} порівняно з нормоксією може свідчити про збільшення в плазмі крові вмісту інозину, ксантину і гіпоксантину, що є проміжними метаболітами при перетворенні молекул АТФ до сечової кислоти. Відомо, що в процесі метаболізму молекули АТФ – інозин перетворюється в гіпоксантин, гіпоксантин в ксантин, ксантин в сечову кислоту. Останні два метаболічні перетворення за дії ксантиноксидази відбуваються з вивільненням супероксид-радикалів. Таким чином, зменшення порівняно з контролем (ішемія-реперфузія без активації SUR) в плазмі крові вмісту інозину та ксантину при стимуляції цих рецепторів може свідчити про пригнічення метаболічних перетворень на вище перерахованих стадіях та, пов'язаного з цим, збільшення вивільнення супероксиду. Тобто, зменшення в плазмі крові вмісту метаболітів деградації АТФ, сечової кислоти та неорганічного фосфату при відкриванні K_{ATP} -каналів (див. табл. 4.13) може свідчити про зменшення утворення за ішемії-реперфузії міокарда супероксид-радикалів, а це вказує на можливе пригнічення утворення пероксинітриту [492].

Таким чином, при аналізі біохімічних параметрів плазми крові вперше показано, що помірної стимуляції SUR-рецепторів K_{ATP} -каналів за допомогою внутрішньовенного введення флокаліну-С (0,1 мг/кг) пригнічує вільнорадикальні реакції та має антиокиснювальні властивості: зменшує вміст H_2O_2 та NO_3^- -радикала (останнє може свідчити про зменшення утворення пероксинітритів), та запобігає зниженню активності ферментів АОС: каталази та СОД. Практично незмінний вміст в плазмі крові протягом всього експерименту НМНТ та збільшення рівня NO_2^- -радикала під час реперфузії можуть свідчити про підтримання системи оксиду азоту в належному стані та протекторний вплив активації цих каналів при ішемії-реперфузії міокарда. Відсутність змін вмісту у плазмі крові неорганічного фосфату та сечової кислоти при ішемії-реперфузії за стимуляції SUR може свідчити про запобігання повної деградації АТФ, а, отже, і утворення як супероксид-аніону за дії ксантиноксидази, так і пероксинітриту при взаємодії останнього з оксидом азоту [36, 85, 94, 492, 494, 495].

4.2.2.2. Вплив стимуляції SUR-рецепторів на зміни біохімічних показників в різних ділянках лівого шлуночка собак після ішемії-реперфузії міокарда.

Проведено дві серії експериментів зі створенням регіональної ішемії міокарда (90хв) та наступної реперфузії (180хв). Контрольну та дослідну, з активацією SUR-рецепторів калієвих каналів, в якій за допомогою зонда за 60 хвилин до початку ішемії внутрішлунково вводили таблетки флокаліну-Л в дозі 2,2 мг/кг. Для визначення біохімічних показників вилучалися шматочки лівого шлуночка міокарда інтактних тварин (n=5), а також тварин після експерименту з трьох ділянок лівого шлуночка – інтактної зони, зони ризику та зони некрозу контрольних тварин (n=7) і тварин з кардіопротекцією, що була викликана активацією SUR-рецепторів (n=7) [28, 84, 93].

Результати досліджень представлено в табл. 4.14 – 4.18 та рис. 4.24 – 4.38.

В контрольних експериментах після ішемії-реперфузії міокарда в лівому шлуночку серця собак значно зростає швидкість індукцйбельного синтезу NO (ферментом iNOS), зокрема в інтактній зоні, зоні ризику та некрозу вона збільшується відповідно у 2,8, 6,7 та 18,2 рази ($1,48 \pm 0,19$; $3,46 \pm 0,57$ та $9,45 \pm 0,79$ пмоль/хв мг білка), порівняно із такою за нормоксії ($0,52 \pm 0,11$ пмоль/хв мг білка), рис. 4.24 а. Натомість швидкість сумарного конститутивного синтезу NO (цитозольним ізоферментом eNOS і ізоферментом nNOS в мітохондріях), навпаки, пригнічена, зокрема у зоні некрозу більш ніж вдвічі (див. табл. 4.14).

За ішемії-реперфузії достовірно зростає неокисна деградація L-аргініну ферментом аргіназою (рис. 4.24 б). Зокрема, в інтактній зоні, зоні ризику та некрозу її активність збільшується порівняно з контролем за умов нормоксії ($1,58 \pm 0,14$ нмоль/хв мг білка) відповідно у 1,8, 4,1 та у 6,5 разів, та становить відповідно $2,77 \pm 0,36$; $6,40 \pm 0,98$ та $10,31 \pm 1,61$ нмоль/хв мг білка, що, обмежує кількість субстрату (L-аргініну) для ферментів NOS.

За ішемії-реперфузії в міокарді активізується також реутилізаційний шлях синтезу оксиду азоту за дії різних нітрит- і нітратредуктаз. Зокрема в інтактній зоні, зоні ризику та некрозу активність НАДФ-залежної нітратредуктази

збільшується порівняно з контролем за умов нормоксії ($0,23 \pm 0,03$ нмоль/хв мг білка) відповідно у 9,4, 19,4 та у 52,7 разів, та становить відповідно $2,16 \pm 0,31$, $4,47 \pm 0,71$ та $12,11 \pm 1,92$ нмоль/хв мг білка (рис. 4.25).

Таблиця 4.14

Вплив активації SUR-рецепторів на активність ферментів синтезу NO та аргінази в міокарді собак за ішемії-реперфузії, ($M \pm m$).

Показник	Групи тварин	Вихідний рівень (без I-P)	Зони лівого шлуночка		
			Інтактна	Ризику	Некрозу
iNOS пмоль/хв мг білка	I-P	$0,52 \pm 0,11$	$1,48 \pm 0,19^*$	$3,46 \pm 0,57^*$	$9,45 \pm 0,79^*$
	Активация SUR + I-P		$1,26 \pm 0,14^*$	$2,10 \pm 0,39^*$	$2,12 \pm 0,35^{**}$
cNOS пмоль/хв мг білка	I-P	$5,89 \pm 0,71$	$4,45 \pm 0,72$	$4,38 \pm 0,53$	$2,77 \pm 0,30^*$
	Активация SUR + I-P		$5,76 \pm 1,02$	$4,58 \pm 0,61$	$3,29 \pm 0,41^*$
Аргіназа нмоль/хв мг білка	I-P	$1,58 \pm 0,14$	$2,77 \pm 0,36^*$	$6,40 \pm 0,98^*$	$10,31 \pm 1,61^*$
	Активация SUR + I-P		$1,96 \pm 0,15$	$2,36 \pm 0,34^{**}$	$3,17 \pm 0,63^{**}$
Нітрат-редуктаза нмоль/хв мг білка	I-P	$0,23 \pm 0,03$	$2,16 \pm 0,31^*$	$4,47 \pm 0,71^*$	$12,11 \pm 1,92^*$
	Активация SUR + I-P		$0,32 \pm 0,04^{**}$	$0,59 \pm 0,12^{**}$	$0,98 \pm 0,16^{**}$

Примітки: тут та в табл. 4.15 -4.19:

1. I-P – ішемія-реперфузія,
2. $*P < 0,05$ по відношенню до вихідного рівня (нормоксія),
3. $**P < 0,05$ по відношенню до значень за ішемії-реперфузії без активації SUR.

Водночас активація SUR-рецепторів K_{ATP} -каналів пригнічує стимульовані ішемією-реперфузією біохімічні реакції в міокарді. Так, активність iNOS при їх стимуляції зменшувалася в зоні некрозу, порівняно з ішемією-реперфузією у 4,5 раза, від $9,45 \pm 0,79$ до $2,12 \pm 0,35$ пмоль/хв мг білка (див. рис. 4.25, а) [28, 84, 93].

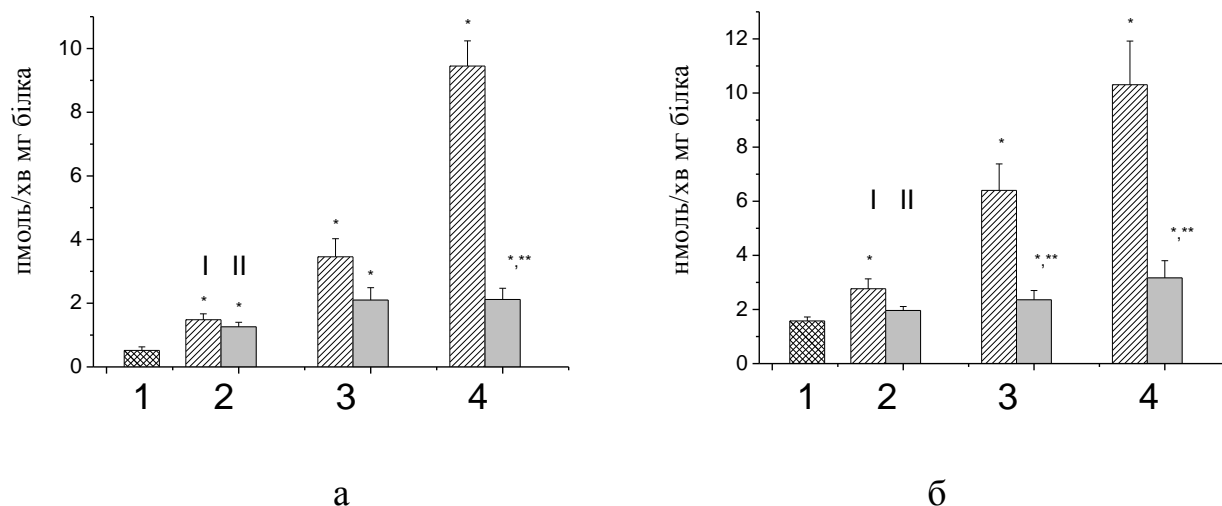


Рис. 4.24 Вплив активації SUR-рецепторів на активність ферментів iNOS (а) та аргінази (б) при ішемії-реперфузії міокарда в різних зонах серця собак *in vivo*; 1 – умови нормоксії (інтактні тварини), 2 – інтактна зона, 3 – зона ризику; 4 – зона некрозу, І – ішемія-реперфузія, ІІ – стимуляція SUR і ішемія-реперфузія, * $P < 0,05$ порівняно з вихідним рівнем (інтактні тварини), ** $P < 0,05$ порівняно з контрольними значеннями (ішемія-реперфузія)

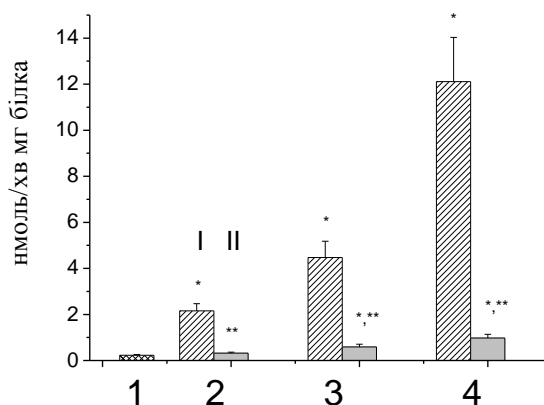


Рис. 4.25 Вплив активації SUR-рецепторів на активність ферменту нітратредуктази при ішемії-реперфузії міокарда в різних зонах серця собак *in vivo*; 1 – умови нормоксії (інтактні тварини), 2 – інтактна зона, 3 – зона ризику; 4 – зона некрозу, І – ішемія-реперфузія, ІІ – стимуляція SUR і ішемія-реперфузія, * $P < 0,05$ порівняно з вихідним рівнем (інтактні тварини), ** $P < 0,05$ порівняно з контрольними значеннями (ішемія-реперфузія)

Аналогічні зміни при активації SUR відбуваються і з активністю таких ферментів як аргіназа та нітратредуктаза (рис. 4.24 б та 4.25). Зокрема, активність аргінази порівняно з експериментами без відкривання каналів достовірно зменшується в зоні ризику в 2,7 (від $6,40 \pm 0,98$ до $2,36 \pm 0,34$ нмоль/хв мг білка), а в зоні некрозу у 3,3 раза (від $10,31 \pm 1,61$ до $3,17 \pm 0,63$ нмоль/хв мг білка). Активність нітратредуктази також достовірно зменшується у всіх зонах лівого шлуночка серця, відповідно у інтактній зоні в 6,8 раза (від $2,16 \pm 0,31$ до $0,32 \pm 0,04$ нмоль/хв мг білка), у зоні ризику в 7,6 разів (від $4,47 \pm 0,71$ до $0,59 \pm 0,12$ нмоль/хв мг білка) та у зоні некрозу аж у 12,4 раза (від $12,11 \pm 1,92$ до $0,98 \pm 0,16$ нмоль/хв мг білка). Дещо кращими при стимуляції SUR були також показники активності cNOS (див. табл. 4.14). Зокрема, в інтактній зоні та зоні некрозу вона була збільшеною порівняно з експериментами з ішемією-реперфузією відкривання калієвих каналів на 29,4% та 18,8% відповідно [28, 84, 93].

Таким чином, один із можливих кардіопротекторних механізмів стимуляції SUR-рецепторів за ішемії-реперфузії міокарда може полягати в інгібуванні надлишкового індукцйбельного *de novo* синтезу оксиду азоту і деградації L-аргініну аргіназою, що забезпечує збереження субстрату (L-аргініну) для конститутивного *de novo* синтезу оксиду азоту. Ще одним механізмом кардіопротекторної дії активації вищезгаданих рецепторів може бути сильна антиішемічна дія, що підтверджується значним інгібуванням реутилізаційного синтезу оксиду азоту, який має місце винятково в умовах ішемії. Адже збереження достатньої кількості молекул кисню в міокарді, його оксигенація, знову ж таки для збереження конститутивного синтезу NO здається дуже важливою, в т.ч. для інгібування МП і, тим самим, зменшення загибелі кардіоміоцитів) [28, 84, 90, 93].

В табл. 4.15 приведено вплив активації SUR-рецепторів K_{ATP} -каналів на зміни вмісту в різних ділянках ішемізованого серця пулів стабільних метаболітів оксиду азоту – нітрит- та нітрат-аніонів, НМНТ та ВМНТ, а також цитруліну. В контрольних експериментах при ішемії-реперфузії міокарда без стимуляції вищезазначених рецепторів у лівому шлуночку серця собак мало місце достовірне

зменшення вмісту пулів нітрит-аніона (у 7,3 раза) лише в зоні некрозу, де він знижується від $514,6 \pm 39,4$ пмоль/мг білка за умов нормоксії до $70,2 \pm 13,5$ пмоль/мг білка (рис. 4.26, табл. 4.15).

Таблиця 4.15

Вплив активації SUR-рецепторів на пули стабільних метаболітів оксиду азоту та цитруліну в різних зонах серця собак після тривалої ішемії та реперфузії, ($M \pm m$).

Показник	Групи тварин	Вихідний рівень (без I-P)	Зони лівого шлуночка		
			Інтактна	Ризику	Некрозу
NO ₂ - пмоль/мг білка	I-P	514,6 ± 39,4	463,1 ± 54,3	349,5 ± 42,7*	70,2 ± 13,5*
	Активация SUR + I-P		921,0 ± 88,6**/**	522,6 ± 87,5	603,3 ± 71,2**
NO ₃ - нмоль/мг білка	I-P	68,2 ± 7,2	88,7 ± 7,9	143,5 ± 17,5*	120,7 ± 18,2*
	Активация SUR + I-P		81,6 ± 12,3	181,3 ± 21,2*	175,8 ± 19,5**/**
НМНТ пмоль/мг білка	I-P	69,7 ± 8,9	114,7 ± 16,2*	135,1 ± 16,6*	178,8 ± 25,9*
	Активация SUR + I-P		77,2 ± 14,3	95,3 ± 13,1	117,5 ± 13,3**/**
ВМНТ пмоль/мг білка	I-P	244,5 ± 34,6	458,2 ± 49,2*	901,7 ± 62,5*	1164,4 ± 164,5*
	Активация SUR + I-P		283,7 ± 22,1**	497,6 ± 85,8**/**	608,5 ± 82,2**/**
Цитрулін пмоль/мг білка	I-P	631,6 ± 51,7	285,8 ± 39,5*	157,9 ± 18,7*	131,5 ± 20,2*
	Активация SUR + I-P		509,9 ± 71,7**	293,7 ± 51,0**/**	213,8 ± 26,4**/**

Активация SUR не тільки запобігає зменшенню вмісту нітрит-аніона, який утворюється спонтанно при окисненні оксиду азоту лише в оксигенованих розчинах, а навпаки, сприяє деякому підвищенню його (див. рис. 4.26). Зокрема, в інтактній зоні він має тенденцію до збільшення порівняно з даними за умов нормоксії (на 79,0%), можливо завдяки властивості цих каналів розширювати коронарні судини серця та збільшувати приток крові, кисню та енергоресурсів до

міокарда. Відмінність вмісту пулів нітрит-аніона в різних зонах серця після ішемії-реперфузії при стимуляції SUR і без неї є ще більш разючою. В першому випадку вміст нітрит-аніона достовірно вищий (у 2,0 та у 8,6 разів, відповідно) у інтактній зоні та зоні некрозу. Таким чином, підвищення вмісту пулів нітрит-аніона в різних зонах лівого шлуночка серця та інгібування активності нітритредуктази є доказом потужної антиішемічної дії активації SUR [28, 84, 93].

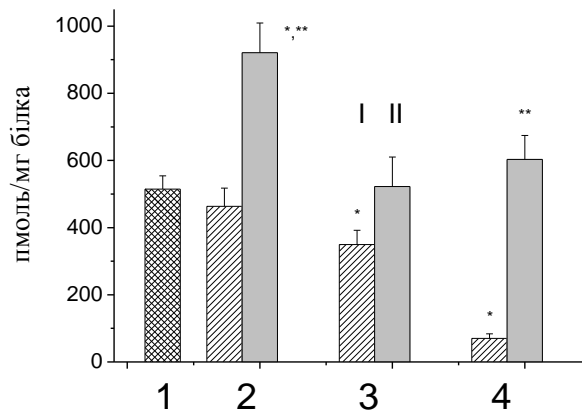


Рис. 4.26 Вплив активації SUR-рецепторів на вміст пулів нітрит-аніона (NO_2^-) при ішемії-реперфузії міокарда в різних зонах серця собак *in vivo*; 1 – умови нормоксії (інтактні тварини), 2 – інтактна зона, 3 – зона ризику; 4 – зона некрозу, І – ішемія-реперфузія, ІІ – стимуляція SUR і ішемія-реперфузія, * $P < 0,05$ порівняно з вихідним рівнем (інтактні тварини), ** $P < 0,05$ порівняно з контрольними значеннями (ішемія-реперфузія)

Цитрулін є супутнім продуктом *de novo* синтезу NO при окисненні L-аргініну за дії всіх ізоферментів NOS, а також метаболітом орнітинового і цитрулінового циклів, останній з яких активно функціонує в кардіоміоцитах для ресинтезу L-аргініну, який синтезований в цитруліновому циклі використовується переважно ізоферментом iNOS для індукцйбельного синтезу NO. В період ішемії-реперфузії в серці ми спостерігали зниження пулів цитруліну (рис. 4.27, табл. 4.15). Це може бути зумовлено інтенсивною утилізацією цитруліну для ресинтезу аргініну, який утилізується не лише для синтезу NO *de novo* (iNOS), але і аргіназою. З іншого боку, зниження рівнів цитруліну, що є природним інгібітором

NOS (за механізмом зворотнього зв'язку) за ішемії-реперфузії, створює умови для більш інтенсивного індукційного синтезу NO.

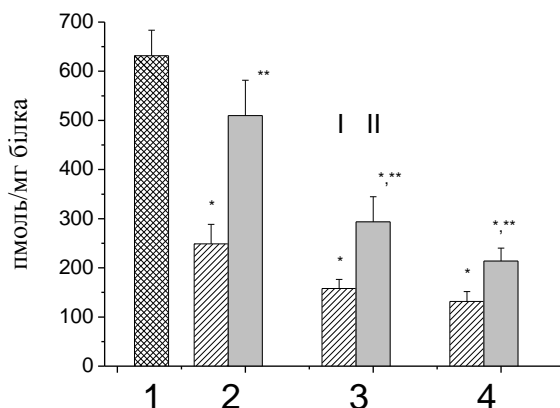


Рис. 4.27 Вплив активації SUR-рецепторів на вміст цитруліну за ішемії-реперфузії міокарда в різних зонах серця собак *in vivo*; 1 – умови нормоксії, 2 – інтактна зона, 3 – зона ризику; 4 – зона некрозу, І – ішемія-реперфузія, ІІ – стимуляція SUR і ішемія-реперфузія, * $P < 0,05$ порівняно з вихідним рівнем (інтактні тварини), ** $P < 0,05$ порівняно з контрольними значеннями (ішемія-реперфузія)

Активація SUR-рецепторів запобігала значному зниженню вмісту пулів цитруліну в міокарді (рис. 4.27), що корелює як із збереженням високої активності конститутивного синтезу оксиду азоту, особливо, в інтактній зоні (див. табл. 4.14), так і зі зниженням активності аргінази (рис. 4.24 б) [28, 84, 90, 93].

Таким чином, стимуляція SUR за ішемії-реперфузії сприяє збереженню конститутивного біосинтезу NO на високому рівні, що може бути одним з механізмів його кардіопротекторної дії. А одною із вагомих протекторних функцій оксиду азоту, що було синтезоване конститутивним шляхом, як відомо, є інгібування відкривання мітохондріальної пори та індукції апоптозу, в т.ч. іонами кальцію та вільними радикалами кисню [181, 553].

Утворення нітрозотіолів, як НМНТ (в основному це нітрозильований глутатіон), так і ВМНТ (нітрозильовані білки), як і вміст нітрат-аніона, може співвідноситись з пулами пероксинітриту. Аналіз вмісту пулів нітрозотіолів в

різних ділянках лівого шлуночка серця після ішемії-реперфузії міокарда виявив, що їх рівень зростає (рис. 4.28, а і б) [28, 84, 90, 93].

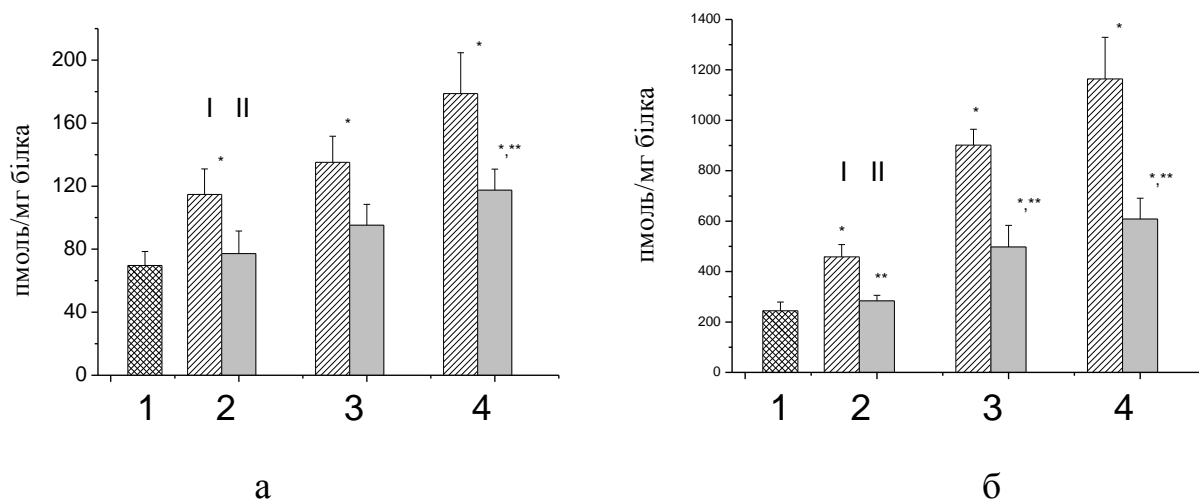


Рис. 4.28 Вплив активації SUR-рецепторів на вміст пулів НМНТ (а), ВМНТ (б) при ішемії-реперфузії міокарда в різних зонах серця собак; 1 – умови нормоксії, 2 – інтактна зона, 3 – зона ризику; 4 – зона некрозу, I – ішемія-реперфузія, II – стимуляція SUR і ішемія-реперфузія, * $P < 0,05$ порівняно з вихідним рівнем (інтактні тварини), ** $P < 0,05$ порівняно з контрольними значеннями (ішемія-реперфузія)

Зокрема, в зоні некрозу вміст НМНТ збільшувався у 2,6 раза порівняно з контролем (нормоксія) (від $69,7 \pm 8,9$ до $178,8 \pm 25,9$ пмоль/мг білка), пули ВМНТ зростали як в зоні ризику у 3,7 раза (від $244,5 \pm 34,6$ при нормоксії до $901,7 \pm 62,5$ пмоль/мг білка), так і в зоні некрозу у 4,8 раза (від $244,5 \pm 34,6$ до $1164,4 \pm 164,5$ пмоль/мг білка). Водночас при активації SUR-рецепторів пули НМНТ і ВМНТ (див. рис. 4.28) мали тенденцію до зниження. Відбувалася стабілізація вмісту нітрозотіолів, можливо, за рахунок інгібування генерації пероксинітриду. Збільшення пулів нітрат-аніона (рис. 4.29) при активації калієвих каналів може вказувати на те, що пероксинітрид в меншій мірі розпадається на токсичні радикали – $\cdot\text{OH}$ та $\cdot\text{NO}_2$, які є ініціаторами ПОЛ, а в більшій мірі на нетоксичний нітрат-аніон, підтвердженням цьому є також зниження пулів НМНТ та ВМНТ (рис. 4.28). Підвищення пулів нітрат-аніона є додатковим доказом інгібування активності нітратредуктази при стимуляції SUR, адже його зменшення при ішемії-

реперфузії може відбуватися за рахунок інтенсивної утилізації нітрат-аніона вищезазначеним ферментом для реутилізаційного синтезу NO.

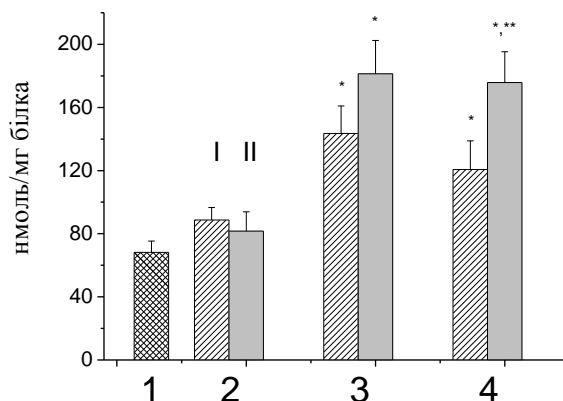


Рис. 4.29 Вплив активації SUR-рецепторів на вміст пулів нітрат-аніона (NO_3^-) за ішемії-реперфузії міокарда в різних зонах серця собак; 1 – умови нормоксії, 2 – інтактна зона, 3 – зона ризику; 4 – зона некрозу, I – ішемія-реперфузія, II – стимуляція SUR і ішемія-реперфузія, * $P < 0,05$ порівняно з вихідним рівнем (інтактні тварини), ** $P < 0,05$ порівняно з контрольними значеннями (ішемія-реперфузія)

Таким чином, ці дані, як і дані щодо пригнічення утворення супероксиду, необхідного для утворення пероксинітриту, про що може свідчити зниження пулів як сечової кислоти (рис. 4.30, а) за дії активованої при реперфузії ксантиноксидази (нуклеотидного генератора супероксиду), так і пулів ейкозаноїдів (рис. 4.30, в і г), що утворюються паралельно з супероксидом його ліпідними генераторами (ліпоксигеназою і циклооксигеназою, відповідно для LTC_4 і TxB_2), вказують на ще один можливий механізм кардіопротекторної дії стимуляції SUR-рецепторів K_{ATP} -каналів, який полягає у інгібуванні генерації супероксиду та, індукційного *de novo* та реутилізаційного синтезу оксиду азоту, що зумовлює обмеження утворення токсичного пероксинітриту (в т.ч. активатора МП і апоптозу) в кардіоміocyтах за ішемії-реперфузії.

Про обмеження як оксидативного (генерація активних форм кисню (АФК)), так і нітрозативного (утворення пероксинітриту) стресу при активації SUR

можуть свідчити також зміни вмісту стабільної активної форми кисню (H_2O_2) і продуктів неферментативного (ДК і МДА) та ферментативного (LTC_4 і TxB_2) окиснення ліпідів (див. табл. 4.16, рис. 4.30 та рис. 4.31). Пероксид водню утворюється, в основному, ферментативно із супероксид-аніону за дії супероксиддисмутази і є маркером на окисний стрес, який розвивається за ішемії-реперфузії.

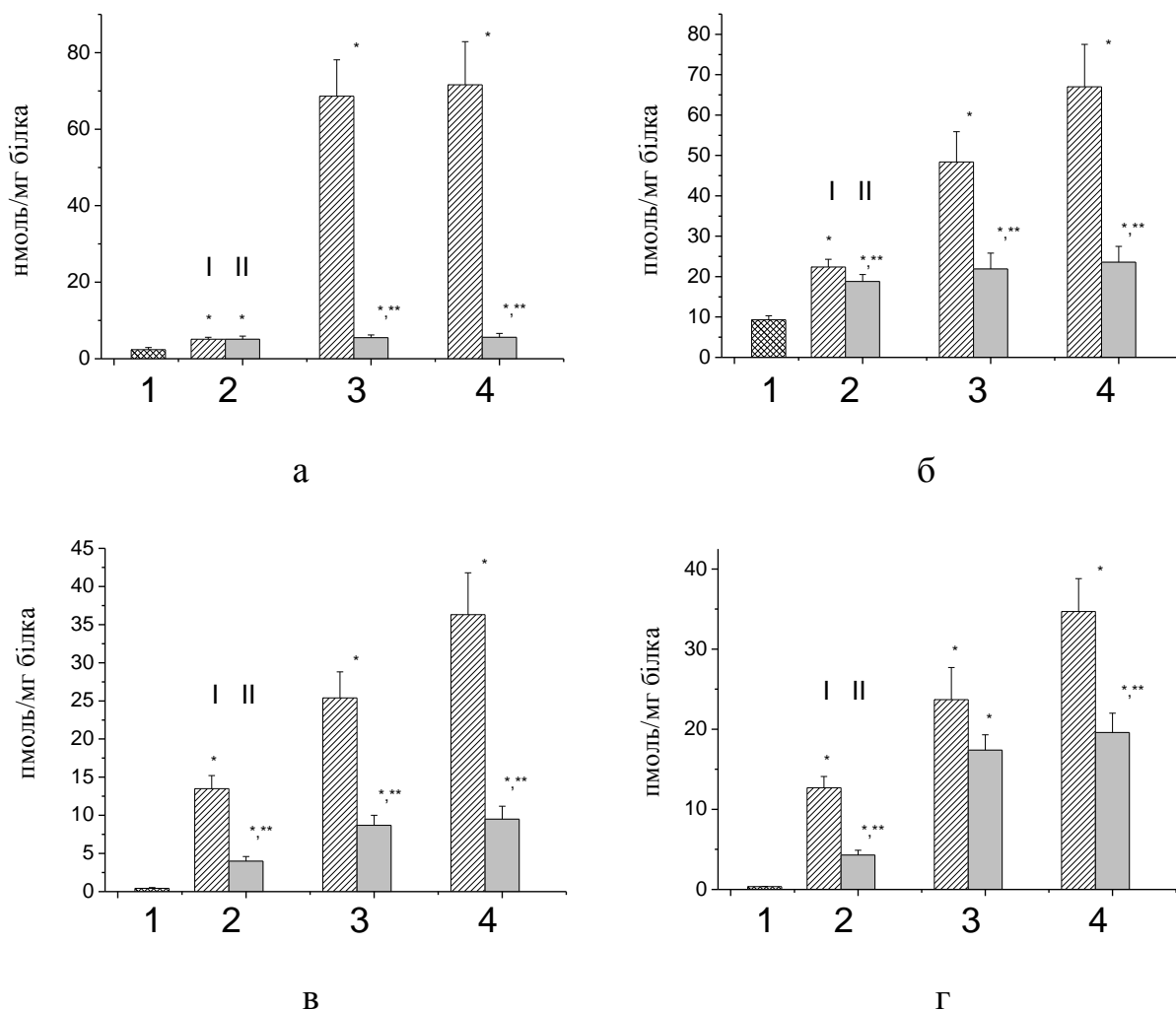


Рис. 4.30 Вплив активації SUR-рецепторів на вміст пулів сечової кислоти (а), H_2O_2 (б) та продуктів ферментативного окиснення ліпідів лейкотриєну C_4 (в) та тромбоксану B_2 (г) при ішемії-реперфузії міокарда в різних зонах серця собак *in vivo*; 1 – умови нормоксії (інтактні тварини), 2 – інтактна зона, 3 – зона ризику; 4 – зона некрозу, I – ішемія-реперфузія, II – стимуляція SUR і ішемія-реперфузія, * $P < 0,05$ порівняно з вихідним рівнем (інтактні тварини), ** $P < 0,05$ порівняно з контрольними значеннями (ішемія-реперфузія)

Таблиця 4.16

Вплив активації SUR-рецепторів на окисний метаболізм в різних зонах серця собак після тривалої ішемії та реперфузії міокарда анестезованої собаки, ($M \pm m$).

Показник	Групи тварин	Вихідний рівень (без I-P)	Зони лівого шлуночка		
			Інтактна	Ризику	Некрозу
H_2O_2 , пмоль/мг білка	I-P	$9,3 \pm 1,0$	$22,4 \pm 1,9^*$	$48,4 \pm 7,5^*$	$67,0 \pm 10,5^*$
	Активация SUR + I-P		$15,8 \pm 1,7^{**}$	$21,9 \pm 3,9^{**}$	$23,6 \pm 3,9^{**}$
ДК, нг/мг білка	I-P	$6,56 \pm 0,66$	$14,0 \pm 1,7^*$	$19,1 \pm 2,6^*$	$25,0 \pm 3,3^*$
	Активация SUR + I-P		$6,8 \pm 0,8^{**}$	$8,8 \pm 1,4^{**}$	$10,7 \pm 1,7^{**}$
LTC_4 , пмоль/мг білка	I-P	$0,43 \pm 0,11$	$13,5 \pm 1,7^*$	$25,4 \pm 3,4^*$	$36,3 \pm 5,5^*$
	Активация SUR + I-P		$4,0 \pm 0,6^{**}$	$8,7 \pm 1,3^{**}$	$9,5 \pm 1,7^{**}$
TxB_2 , пмоль/мг білка	I-P	$0,36 \pm 0,02$	$12,7 \pm 1,4^*$	$23,7 \pm 4,0^*$	$34,7 \pm 4,1^*$
	Активация SUR + I-P		$4,3 \pm 0,6^{**}$	$17,4 \pm 1,9^*$	$19,6 \pm 2,4^{**}$
Сечова кислота, нмоль/мг білка	I-P	$2,39 \pm 0,56$	$5,1 \pm 0,5^*$	$68,6 \pm 9,5^*$	$71,6 \pm 11,3^*$
	Активация SUR + I-P		$5,1 \pm 0,8^*$	$5,5 \pm 0,7^{**}$	$5,6 \pm 1,0^{**}$
МДА, нмоль/мг білка	I-P	$6,2 \pm 0,9$	$24,7 \pm 4,1^*$	$33,3 \pm 4,9^*$	$168,3 \pm 18,7^*$
	Активация SUR + I-P		$13,5 \pm 1,5^{**}$	$18,3 \pm 2,3^{**}$	$23,0 \pm 3,2^{**}$

Зокрема, в експериментах без активації SUR вміст H_2O_2 в інтактній зоні, зоні ризику та некрозу збільшувався порівняно з контролем (нормоксія) відповідно від $9,3 \pm 1,0$ пмоль/мг білка до $22,4 \pm 1,9$; $48,4 \pm 7,5$ та $67,0 \pm 10,5$ пмоль/мг білка (у 2,4; 5,2 та 7,2 раза), (див. рис. 4.30, б), вказуючи на значне зростання генерації супероксиду, про що згадувалося раніше. Водночас стимуляція вищезгаданих рецепторів достовірно зменшувала пули пероксиду водню, а, отже, і генерацію супероксиду, в міокарді при ішемії-реперфузії, а саме, в зонах ризику і некрозу

серця вони були менші відповідно у 2,2 та майже втричі.

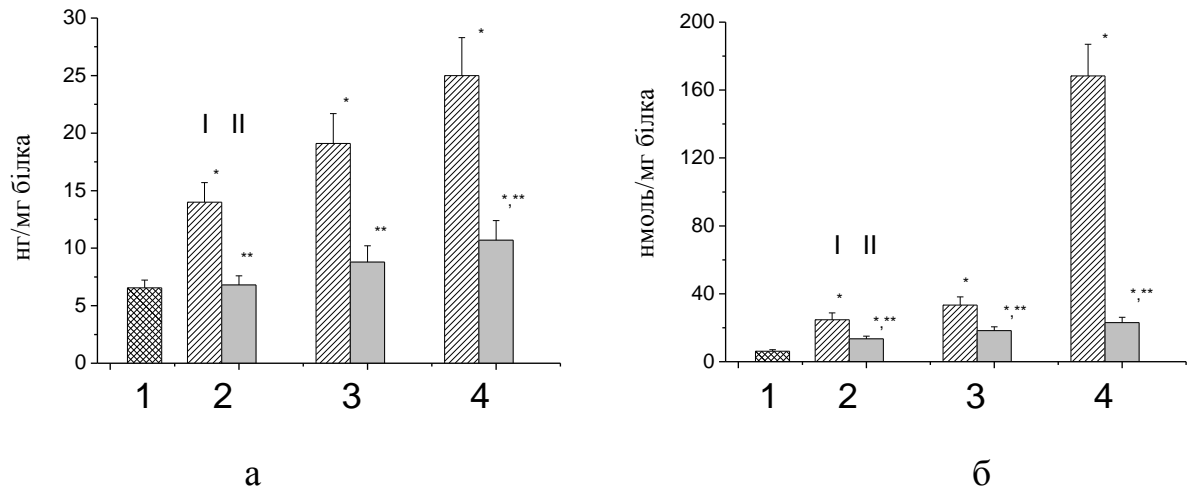


Рис. 4.31 Вплив активації SUR-рецепторів на вміст продуктів неферментативного окиснення ліпідів ДК (а) та МДА (б) при ішемії-реперфузії міокарда в різних зонах серця собак; 1 – умови нормоксії, 2 - інтактна зона, 3 – зона ризику; 4 - зона некрозу, I - ішемія-реперфузія, II – стимуляція SUR і ішемія-реперфузія, * $P < 0,05$ порівняно з вихідним рівнем (інтактні тварини), ** $P < 0,05$ порівняно з контрольними значеннями (ішемія-реперфузія)

Зниження вмісту H_2O_2 у ділянках лівого шлуночка ішемізованого серця свідчить про зменшення утворення в них супероксид-аніону та потужну антиоксидантну дію активації SUR-рецепторів (див. рис. 4.30, б). Підтвердженням цього може бути і менше зростання в різних ділянках серця порівняно з ішемією-реперфузією пулів як ранніх (ДК), так і пізніх (МДА) продуктів перекисного окиснення ліпідів (рис. 4.31). Зокрема, в експериментах без збільшення активності SUR вміст ДК в інтактній зоні, зоні ризику та некрозу достовірно збільшувався порівняно з вихідним контролем (нормоксія) відповідно у 2,1, 2,9 та 3,8 раза (рис. 4.31, а). Водночас їх активація попереджувала утворення ДК – зокрема, в інтактній зоні їх рівень становив $6,8 \pm 0,8$ нг/мг білка, будучи таким же як і за нормоксії ($6,56 \pm 0,66$ нг/мг білка), тоді як без їх активації пули ДК в цій зоні зростали більш ніж вдвічі (до $14,0 \pm 1,7$ нг/мг білка). Аналогічні зміни відбувалося і в зоні ризику (нижче у 2,2 раза) і у зоні некрозу (нижче в 2,3 раза) (рис. 4.31, а). ДК утворюються при неферментативному окисненні ліпідів (ПОЛ), а зниження їх

вмісту свідчить про потужну антиоксидантну дію активації SUR-рецепторів, а також про інгібування утворення ініціаторів ПОЛ: *ОН-радикалу (при перетворенні H_2O_2 в реакціях Фентона і Хабер-Вайса в присутності заліза) та *ОН і NO_2^* -радикалів, що утворюються при радикальному (на відміну від нерадикального, за якого утворюється нітрат-аніон) розпаді пероксинітриту.

Подібні зміни відбувалися і з рівнем кінцевого продукту ПОЛ – МДА (рис. 4.31, б). При ішемії-реперфузії його вміст в інтактній зоні та зоні ризику збільшувався порівняно з контролем (нормоксія) відповідно у 4,0 та 5,4 раза, у зоні некрозу – катастрофічно зростав у 27,1 разів, відповідно до $24,7 \pm 4,1$; $33,3 \pm 4,9$ та $168,3 \pm 18,7$ нмоль/мг білка, від $6,2 \pm 0,9$ нмоль/мг білка за умов нормоксії. Водночас при активації SUR-рецепторів K_{ATP} -каналів значно зменшувалася протяжність вільнорадикальних ланцюгів процесу ПОЛ (вони укорочувалися), про що свідчить потужне зниження утворення МДА в протектованому міокарді порівняно з непротектованим (за ішемії-реперфузії), а саме, в інтактній зоні у 2,2 раза, зоні ризику майже втричі, а у зоні некрозу у 7,3 раза. Отже, стимуляція SUR може чинити не лише антиоксидантну, але і антирадикальну дію, укорочуючи (обриваючи) ланцюги ланцюгової реакції ПОЛ [28, 84].

Активація вищевказаних рецепторів чинить виражену антиоксидантну дію інгібуючи ПОЛ шляхом зменшення пулів не лише H_2O_2 , але, і супероксид-аніону ($O_2^{\bullet-}$) інгібуючи такі його генератори як ксантинооксидаза (про що свідчить зниження рівнів сечової кислоти, рис. 4.30, а), ліпоксигеназа (зниження рівнів LTC_4 , рис. 4.30, в) та циклооксигеназа (зниження рівнів TxB_2 , рис. 4.30, г).

Рівень сечової кислоти після ішемії-реперфузії порівняно з нормоксією в інтактній зоні збільшувався у 2,1 раза, тоді як у зоні ризику та некрозу майже у 30 разів! Відповідно від $2,39 \pm 0,56$ нмоль/мг білка за умов нормоксії до $5,1 \pm 0,5$; $68,6 \pm 9,5$ та $71,6 \pm 11,3$ нмоль/мг білка (рис. 4.30 а, табл. 4.16). Активування SUR-рецепторів значно зменшувало утворення сечової кислоти (а, отже, і супероксиду) – у зоні ризику в 12,5, а у зоні некрозу – в 12,8 разів. При цьому її вміст за їх активації залишався практично однаковим в різних ділянках ішемізованого серця та складав $5,1 \pm 0,8$; $5,5 \pm 0,7$ та $5,6 \pm 1,0$ нмоль/мг білка відповідно до зон (рис.

4.30, а), будучи лише вдвічі вищим вихідного рівня (за нормоксії) [28, 84, 90].

Сечова кислота утворюється в ксантиноксидазній реакції, коли одночасно з нею генерується супероксид і, таким чином, вона є тестом на активність цього процесу. Дуже важливим він є, з огляду на те, що за ішемії-реперфузії одночасно активується не лише синтез супероксиду, що було відомо давно, але і відбувається інтенсивний синтез NO ізоферментом iNOS (рис. 4.25), що є передумовою для утворення пероксинітриту ($\text{NO} + \text{O}_2^{\bullet -} = \text{ONOO}^-$). Рівні сечової кислоти у крові давно стали важливим тестом для встановлення пошкодження роботи серця. Як і сечовина, в низьких концентраціях сечова кислота є потентним водорозчинним антиоксидантом, за рахунок зв'язування пероксинітриту і OH^{\bullet} , крім того, за рахунок інгібування ксантиноксидазної реакції за механізмом зворотнього зв'язку, подібно тому, як сечовина є інгібітором аргінази. У високих концентраціях сечова кислота, як і сечовина є токсичною і тому зниження її рівнів при стимуляції SUR-рецепторів K_{ATP} -каналів може бути тестом на нормалізацію роботи серця в процесі реперфузії після тривалої ішемії.

За ішемії-реперфузії в міокарді значно зростає рівень LTC_4 , а саме, в інтактній зоні, зоні ризику та некрозу він збільшується відповідно у 31,4; 59,1 та 84,4 раза (від $0,43 \pm 0,11$ пмоль/мг білка за умов нормоксії до, відповідно, $13,5 \pm 1,7$; $25,4 \pm 3,4$ та $36,3 \pm 5,5$ пмоль/мг білка (рис. 4.30 в, табл. 4,16). Аналогічно збільшується і рівень TxB_2 – у 35,3 та 65,8 разів в інтактній зоні та зоні ризику, та майже на два порядки у зоні некрозу (від $0,36 \pm 0,02$ пмоль/мг білка за умов нормоксії до, відповідно, $12,7 \pm 1,4$; $23,7 \pm 4,0$ та $34,7 \pm 4,1$ пмоль/мг білка (рис. 4.30 г, табл. 4,16). Стимуляції SUR значно зменшувала утворення як LTC_4 , так і TxB_2 . Зокрема, вміст LTC_4 у 3,38; 2,92 та 3,82 раза, відповідно, в інтактній зоні, зоні ризику та некрозу (від $0,43 \pm 0,11$ пмоль/мг білка за нормоксії до $4,0 \pm 0,6$; $8,7 \pm 1,3$ та $9,5 \pm 1,7$ пмоль/мг білка), а вміст TxB_2 майже втричі був меншим контрольного (після ішемії-реперфузії без активації вищезазначених рецепторів) лише в інтактній зоні ($4,3 \pm 0,6$ пмоль/мг білка за кардіопротекції в порівнянні $12,7 \pm 1,4$ пмоль/мг білка без) [28, 84, 90, 93].

Зменшення утворення окиснених метаболітів арахідонової кислоти при

стимуляції SUR-рецепторів K_{ATP} -каналів, можливо, відбувається не тільки за рахунок пригнічення ліпоксигеназного та циклооксигеназного шляхів її метаболізму, а і за рахунок зменшення пулів самої кислоти (табл. 4.17, рис. 4.32).

Таблиця 4.17

Вплив активації SUR-рецепторів на значення біохімічних показників в різних зонах серця собак після тривалої ішемії та реперфузії міокарда, ($M \pm m$).

Показник	Групи тварин	Вихідний рівень (без I-P)	Зони лівого шлуночка		
			Інтактна	Ризику	Некрозу
Сечовина нмоль/мг білка	I-P	156,5 ± 18,4	120,5 ± 18,3	263,0 ± 39,5*	524,5 ± 36,8*
	Активация SUR + I-P		205,9 ± 16,5**	159,6 ± 19,8**	147,2 ± 27,5**
Арахідонова к-та нмоль/мг білка	I-P	0,59 ± 0,5	2,36 ± 0,22*	4,56 ± 0,32**	6,70 ± 0,95**
	Активация SUR + I-P		1,98 ± 0,15*	2,86 ± 0,3*	3,47 ± 0,51*
Білірубін пмоль/мг білка	I-P	2,1 ± 0,2	14,9 ± 2,1*	17,5 ± 1,9*	19,0 ± 2,6*
	Активация SUR + I-P		18,6 ± 3,0*	23,8 ± 2,6*	37,4 ± 5,6*/**
Залізо пмоль/мг білка	I-P	1,71 ± 0,13	2,0 ± 0,3	7,9 ± 1,0*	10,7 ± 1,6*
	Активация SUR + I-P		7,9 ± 1,1*/**	16,3 ± 1,4*/**	34,8 ± 5,1*/**
Сфінгозин нмоль/мг білка	I-P	0,31 ± 0,04	0,33 ± 0,05	0,40 ± 0,06	0,41 ± 0,06
	Активация SUR + I-P		0,31 ± 0,03	0,91 ± 0,05*/**	1,46 ± 0,14*/**

Стимуляція SUR за ішемії-реперфузії міокарда дещо гальмує (у 1,19 раза) підвищення вмісту вільної арахідонової кислоти в інтактній зоні – вміст якої зростає у 3,36 раза. Проте у зоні ризику та некрозу це пригнічення вже становить відповідно 1,59 та 1,93 раза ($2,86 \pm 0,3$ та $3,47 \pm 0,51$ нмоль/мг білка з активації каналів в порівнянні $4,56 \pm 0,32$ і $6,70 \pm 0,95$ нмоль/мг білка без неї та при значенні $0,59 \pm 0,59$ нмоль/мг білка за нормоксії (рис. 4.32, табл. 4.17).

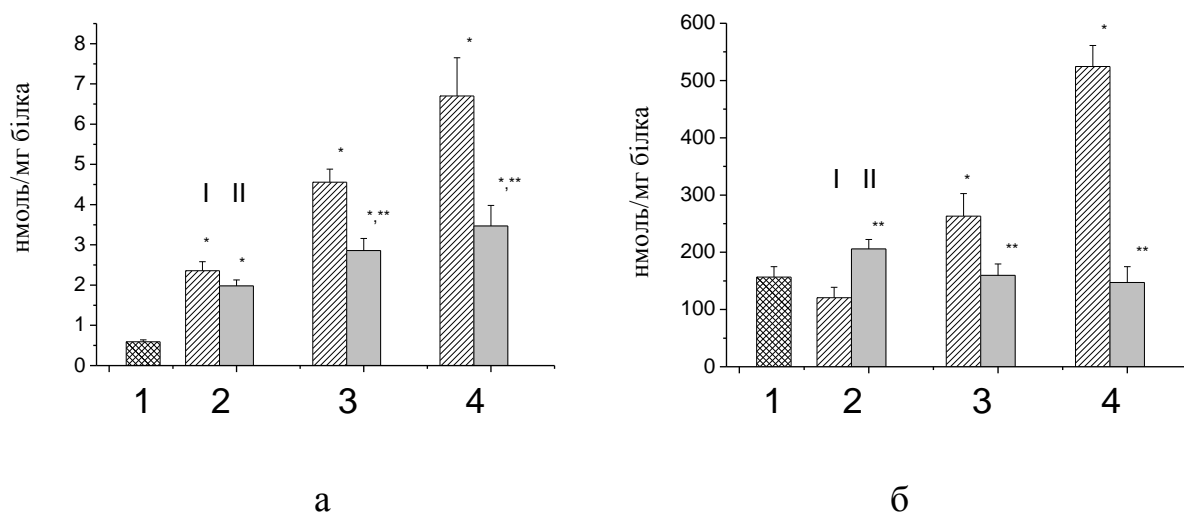


Рис. 4.32 Вплив активації SUR-рецепторів на вміст в різних зонах серця арахідонової кислоти (а) та сечовини (б) при ішемії-реперфузії міокарда собак; 1 – умови нормоксії, 2 - інтактна зона, 3 – зона ризику; 4 - зона некрозу, І - ішемія-реперфузія, ІІ – стимуляція SUR і ішемія-реперфузія, * $P<0,05$ порівняно з вихідним рівнем (інтактні тварини), ** $P<0,05$ порівняно з контрольними значеннями (ішемія-реперфузія)

Зменшення вмісту вільної арахідонової кислоти при стимуляції SUR, можливо, відбувається завдяки інгібуванню L-типу кальцієвих каналів цитоплазматичної мембрани, що супроводжується зниженням вмісту вільного кальцію у цитоплазмі та пригніченням активності Ca^{2+} -залежних ферментів, зокрема фосфоліпази A_2 .

При ішемії-реперфузії міокарда в зоні ризику та особливо некрозу значно збільшується вміст пулів сечовини (див. рис. 4.32 б, табл. 4.17). В низьких концентраціях вона є хелатором вільного заліза, тим самим проявляючи антиоксидантні властивості, за рахунок інгібування генерації OH^* , інгібітором ресинтезу аргініну в цитруліновому (цитрулін – аргініносукцинат – аргінін) циклі, за рахунок прямого включення в цикл замість аспартату (при цьому утворюється токсичний уреїдосукцинат, що блокує цикл). В процесі ішемії-реперфузії рівні активності аргінази (рис. 4.24 б) і пули сечовини значно зростають, передбачаючи можливість інтенсивного утворення уреїдосукцинату. Отже, за такого високого

вмісту при ішемії-реперфузії сечовина може чинити кардіотоксичну дію. При активації SUR вміст сечовини в різних зонах серця після ішемії-реперфузії статистично не відрізняється від такого в умовах нормоксії. Таким чином, кардіопротекторна дія стимуляції SUR-рецепторів K_{ATP} -каналів може також полягати у інгібуванні утворення високих рівнів вмісту сечовини за рахунок зниження активності аргінази [28, 84, 90, 93].

Відомо, що при ішемії-реперфузії в кардіоміоцитах зростає деградація гемугу, в тому числі і в мітохондріях, яка здійснюється захисним стрес-ферментом гемоксигеназою (гем = білірубін + CO + Fe). В наших дослідках про це свідчить значне збільшення як рівнів білірубіну (в інтактній зоні, зоні ризику та некрозу відповідно у 7,1, 8,3 та 9 разів), так і рівнів заліза у 4,6 і 6,3 раза у зоні ризику та некрозу (рис. 4.33, табл. 4.17).

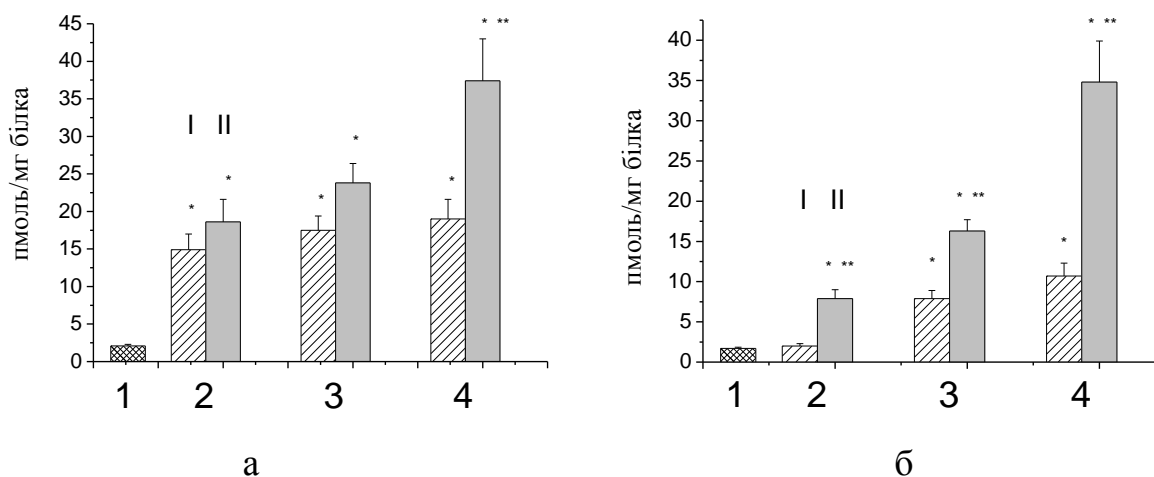


Рис. 4.33 Вплив активації SUR-рецепторів на вміст білірубіну (а) та заліза (б) за ішемії-реперфузії міокарда; 1 – умови нормоксії, 2 - інтактна зона, 3 – зона ризику; 4 - зона некрозу, I - ішемія-реперфузія, II – стимуляція SUR і ішемія-реперфузія, * $P < 0,05$ порівняно з вихідним рівнем (інтактні тварини), ** $P < 0,05$ порівняно з контрольними значеннями (ішемія-реперфузія)

Вперше показано, що стимуляція SUR-рецепторів не тільки не гальмує цей процес, але навіть його посилює (рівні білірубіну в інтактній зоні, зоні ризику та некрозу порівняно з нормоксією зростали відповідно у 8,9; 11,3 і 17,8 разів, а заліза у зоні ризику та некрозу у 9,5 і 20,1 раза), що також може бути одним із

механізмів кардіопротекторної дії активації цих рецепторів, оскільки відомо про значну нейро- і кардіопротекторну дію двох продуктів гемоксигеназної реакції – білірубін і CO (оксида вуглецю). Зокрема, останній, що може генеруватися, як показують дані по його копродуктах, у великих кількостях при деградації гему, особливо при відкриванні вищезазначених каналів, може чинити протекторну дію при ішемії-реперфузії подібно оксиду азоту [26, 171, 483].

Зниження рівнів сфінгозину (рис. 4.34, табл. 4.17), що має місце в кардіоміоцитах при ішемії-реперфузії співвідноситься з пошкодженням міокарда, можливо за рахунок індукції процесів некрозу чи апоптозу, а також зі зниженням активності cNOS.

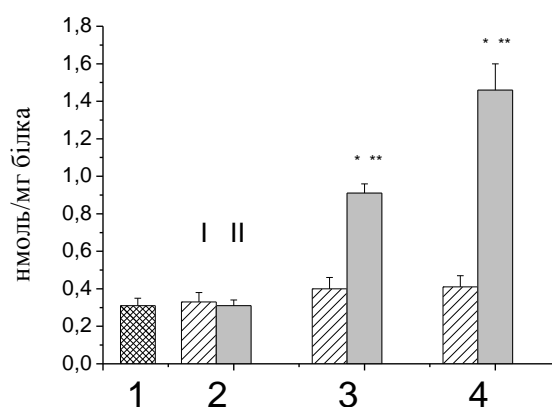


Рис. 4.34 Вплив активації SUR-рецепторів на вміст сфінгозину в різних зонах серця за ішемії-реперфузії міокарда; 1 – умови нормоксії, 2 - інтактна зона, 3 – зона ризику; 4 - зона некрозу, I - ішемія-реперфузія, II – стимуляція SUR і ішемія-реперфузія, * $P < 0,05$ в порівнянні до умов нормоксії, ** $P < 0,05$ порівняно з контрольними значеннями (ішемія-реперфузія)

Підвищення вмісту сфінгозину при стимуляції SUR-рецепторів за ішемії-реперфузії міокарда анестезованих собак може бути ще одним механізмом їх кардіопротекторної дії. Оскільки сфінгозин є метаболітом сфінгом'єлінового сигнального каскаду (сфінгом'єлін – церамід – сфінгзин – етаноламінфосфат), однією з функцій якого є регуляція апоптозу і виживання клітин різних органів, в тому числі кардіоміоцитів, а також Ca^{2+} –незалежна активація cNOS шляхом активації протеїнкінази PKB/Akt, одним із активаторів якої є фосфорильований

сфінгозин. В мітохондріях серця сфінгозин може синтезуватися *de novo*, отже, яким чином відбувається підвищення його рівнів при стимуляції вищезазначених рецепторів, чи шляхом активації його *de novo* синтезу в мітохондріях, чи за рахунок активації гідролізу сфінгом'єліну – залишається не відомим.

При ішемії-реперфузії міокарда також значно зростають рівні продуктів деградації пуринових нуклеотидів: АТФ і ГТФ – ксантину, гіпоксантину та інозину (речовин, що мають оптичну густину D_{254} нм), а саме у 7,4; 17,0 та 32,4 рази, та неорганічного фосфату – у 4,5; 9,2 та 15,7 разів, в інтактній зоні, зоні ризику та некрозу відповідно (табл. 4.18, рис. 4.35) [28, 84, 90, 93].

Таблиця 4.18

Вплив активації SUR-рецепторів на деградацію пуринових нуклеотидів (АТФ і ГТФ) в різних зонах серця собак після тривалої ішемії та реперфузії, ($M \pm m$).

Показник	Групи тварин	Вихідний рівень (без I-P)	Зони лівого шлуночка		
			Інтактна	Ризику	Некрозу
E_{254} , ΔE / мг білка	I-P	$0,032 \pm 0,004$	$0,236 \pm 0,017^*$	$0,544 \pm 0,048^*$	$1,036 \pm 0,121^*$
	Активация SUR + I-P		$0,073 \pm$ $0,014^{**}$	$0,201 \pm$ $0,036^{**}$	$0,325 \pm$ $0,045^{**}$
Неорганічний фосфат, нмоль/мг білка	I-P	$9,50 \pm 0,53$	$42,3 \pm 6,4^*$	$87,7 \pm 12,9^*$	$149,1 \pm 16,7^*$
	Активация SUR + I-P		$11,9 \pm 1,1^{**}$	$33,2 \pm 5,5^{**}$	$47,7 \pm 7,5^{**}$

Зменшення рівня АТФ, з одного боку, погіршує роботу серця, з іншого, спричиняє, в залежності від ступеня зниження рівнів АТФ і ГТФ в мітохондріях, апоптоз чи некроз кардіоміоцитів та ушкодження міокарда. Їх інтенсивний гідроліз є індуктором некрозу, помірний – апоптозу. Відомо, що активація K_{ATP} -каналів призводить до зменшення використання енергоресурсів клітини та до збереження запасів АТФ, що є особливо важливо перед ішемією. Стимуляція SUR-рецепторів значно знижувала рівні продуктів деградації пуринових

нуклеотидів (D_{254}) в міокарді, а саме у 3,2 раза в інтактній зоні та зоні некрозу, та у 2,7 раза в зоні ризику порівняно з непротектованим контролем (ішемія-реперфузія), при цьому рівні неорганічного фосфату знижувалися в цих зонах у 3,6; 2,6 та 3,1 раза (відповідно в інтактній зоні, зоні ризику та некрозу) порівняно з ішемією-реперфузією без їх стимуляції (табл. 4.18, рис. 4.35). Отже, за активації вищезгаданих рецепторів знижувалася деградація молекул АТФ (шлях до апоптозу) і ГТФ (шлях до некрозу) в кардіоміоцитах, що може бути ще одним важливим механізмом їх кардіопротекторної дії [28, 84, 93].

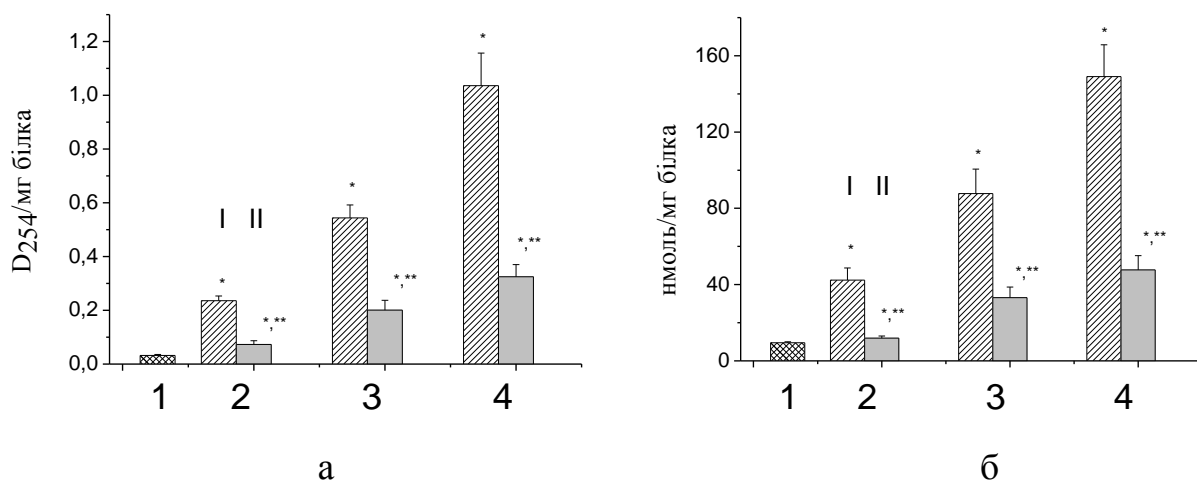


Рис. 4.35 Вплив активації SUR-рецепторів на вміст в різних зонах серця продуктів деградації пуринових нуклеотидів (а) та неорганічного фосфату (б) при ішемії-реперфузії міокарда собак; 1 – умови нормоксії (інтактні тварини), 2 – інтактна зона, 3 – зона ризику; 4 – зона некрозу, І – ішемія-реперфузія, ІІ – стимуляція SUR і ішемія-реперфузія, * $P<0,05$ порівняно з вихідним рівнем (інтактні тварини), ** $P<0,05$ порівняно з контрольними значеннями (ішемія-реперфузія)

В табл. 4.19 представлено розраховані показники по змінам біохімічних параметрів в різних зонах міокарда. Величина відношення сечовина/цитрулін є маркером співвідношення неокисного аргіназного і окисного NO-синтазного метаболізму L-аргініну. За ішемії-реперфузії величина цього відношення в інтактній зоні зростає в 1,92 раза, що є значно менше ніж в зоні ризику (у 6,68 раза і, особливо, у зоні некрозу (у 15,96 раза).

Таблиця 4.19

Розраховані показники по змінам біохімічних параметрів в різних зонах серця собак при активації SUR-рецепторів за ішемії-реперфузії міокарда, (M±m).

Показники	Вихідний рівень (без I-P)	Інтактна зона		Зона ризику		Зона некрозу	
		I-P	Активация SUR + I-P	I-P	Активация SUR + I-P	I-P	Активация SUR + I-P
Сечовина/ цитрулін, у.о.	0,25	0,48	0,40	1,67	0,54	3,99	0,69
%	100	192*	160	668*	216*/**	1596*	276*/**
АФА/АФК (NO ₂ /H ₂ O ₂), у.о.	55,33	20,67	58,29	7,22	23,86	1,05	25,56
%	100	37*	105**	13*	43*/**	1,9*	46*/**
АФА/АФК (NO ₂ /NO ₃), у.о.	7,55	5,22	11,29	2,44	2,88	0,58	3,43
%	100	69	149	32*	38*	8*	45*/**
(ДК+МДА)/ (LTC ₄ +TxB ₂), у.о	16,0	1,48	2,45	1,07	1,08	2,72	1,16
%	100	9*	15*	7*	7*	17*	7*/**
Сумарна NOS (iNOS+cNOS), пмоль/хв мг білка	6,41	5,93	7,02	7,84	6,68	12,22	5,41
%	100	93	110	122	104	191*	84**
Аргіназа / NOS, у.о.	2464	4671	2792	8163	3533	8437	5859
%	100	190	113	331*	143	342*	238*
Аргіназа/iNOS, у.о.	3038	1872	1555	1850	1124	1091	1495
%	100	62	51*	61	37*	36*	49*
Аргіназа/cNOS, у.о.	268	622	340	1461	515	3722	963
%	100	232*	127	545*	192**	1389*	359*/**
Нітратредуктаза/ NOS, у.о.	359	3642	456	5701	883	9910	1811
%	100	1014*	127**	1588*	246*/**	2760*	504*/**
Нітратредуктаза/ iNOS, у.о.	442	1459	254	1292	281	1281	462
%	100	330*	57**	292*	63**	290*	104**

Продовження табл. 4.19

Показники	Вихідний рівень (без I-P)	Інтактна зона		Зона ризику		Зона некрозу	
		I-P	K _{ATФ} + I-P	I-P	K _{ATФ} + I-P	I-P	K _{ATФ} + I-P
Нітратредуктаза/ cNOS, у.о.	39	485	55	1021	129	4372	298
%	100	1243*	141**	2618*	331*/**	11210*	764*/**
Індекс оксигенації (1000NO ₂ / (NO ₃ +сечовина)) у.о.	2,289	2,214	3,203	0,860	1,533	0,109	1,868
%	100	97	140	37*	67**	5*	82**
TxB ₂ /LTC ₄ , од.	0,900	0,941	1,075	0,933	2,000	0,956	2,063
%	100	105	119	104	222*/**	106*	229*/**
% NO ₂ в сумі (NO ₂ + NO ₃ =100%)	0,76	0,52	1,13	0,24	0,29	0,06	0,36
%	100	68	149	31*	38*	8*	47*/**
Частка iNOS (cNOS+ iNOS)=100%), %	8,11	24,96	17,95	44,13	31,44	77,33	39,19
%	100	312*	224*	552*	393*	967*	490*/**
Частка cNOS (iNOS+ cNOS)=100%), %	91,89	75,04	82,05	55,87	68,56	22,67	60,81
%	100	81	89	61	75	25*	66**
Сумарні нітрозотіоли, пмоль/мг білка	314,2	572,9	360,9	1036,8	592,9	1343,2	726,0
%	100	182	115	330*	189	428*	231*/**
% NO ₂ в сумі (NO ₂ + НМНТ + ВМНТ =100%)	62,09	44,70	71,85	25,21	46,85	4,97	45,40
%	100	72	116	41*	75	8*	73**
% НМНТ в сумі тій же	8,41	11,07	6,02	9,75	8,54	12,65	8,84
%	100	132	72	116	101	150	105
% ВМНТ в сумі тій же	29,50	44,23	22,13	65,04	44,61	82,38	45,79
%	100	150	75**	220*	151	279*	155

Водночас активація SUR-рецепторів суттєво стримує зростання величини співвідношення неокисний/окисний метаболізм аргініну після ішемії-реперфузії – в інтактній зоні відбувається збільшення у 1,6 (1,9 в контролі) раза від рівня нормоксії, в зоні ризику і некрозу, відповідно у 2,16 та 2,76 раза, що нижче контрольних рівнів (ішемія-реперфузія без стимуляції SUR), відповідно у 3,1 та 5,8 раза.

Величина відношення $\text{NO}_2^-/\text{H}_2\text{O}_2$ характеризує співвідношення інтенсивностей нітрозативного (нітрит-аніон тут виступає маркером синтезу оксиду азоту, як його стабільний метаболіт) і оксидативного (маркером якого є стабільний пероксид водню) стресу в різних зонах серця після ішемії-реперфузії за і без дії флокаліну. Суттєве зниження величини цього відношення за ішемії-реперфузії у 2,68, 7,66 та 52,7 раза відповідно в інтактній зоні, зонах ризику і некрозу в порівнянні умов нормоксії свідчить про перевищення утворення активних форм кисню (АФК) над синтезом активних форм азоту (АФА) після реперфузії, яке суттєво стримується активацією SUR – у 2,82, 3,3 та 23,45 раза в інтактній зоні, зоні ризику та некрозу відповідно (див. табл. 4.19) [28, 84, 90, 93].

Аналогічно, активація SUR-рецепторів стримує зростання величини співвідношення нітрит-аніон (як маркер синтезу АФА)/нітрат-аніон (як маркер синтезу супероксиду, утворення і розпаду пероксинітриту), що знову ж таки характеризує зміну величини співвідношення АФК/АФА після ішемії-реперфузії. Проте достовірних значень це пригнічення відбувається лише в зоні некрозу – у 5,91 раза (від 8 до 45%). Величина відношення $(\text{ДК}+\text{МДА})/(\text{LTC}_4+\text{TxB}_2)$ характеризує співвідношення активності неферментативного окиснення ліпідів (ДК і МДА – пули ранніх і кінцевих продуктів процесу ПОЛ) до активності ферментативного окиснення ліпідів (визначали пули продуктів двох різних ферментативних шляхів окиснення вільної арахідонової кислоти – LTC_4 , що характеризує інтенсивність ліпоксигеназного шляху, і TxB_2 , що характеризує активність циклооксигеназного шляху окиснення).

За нормоксії рівень активності неферментативного більш ніж у 10 разів переважає рівень активності ферментативного окиснення. Після ішемії-реперфузії

це співвідношення значно знижується у всіх зонах серця – інтактній, ризику та некрозу у 10,81, 14,95 та 5,88 разів відповідно. Водночас за активації вищезгаданих рецепторів величина цього співвідношення не змінювалася в зоні ризику, достовірно знижувалася у зоні некрозу до рівня зони ризику, а у інтактній зоні мала тенденцію до підвищення і була на рівні контрольних значень у зоні некрозу (відповідно 15 і 17 %). Важливим для кардіопротекції є пригнічення як неферментативних процесів ПОЛ, так і ферментативного окиснення вільної арахідонової кислоти. Як показано вище, це досягається завдяки комплексній дії стимуляції SUR, а саме:

а) пригнічення утворення вільної арахідонової кислоти та її окиснення як циклооксигеназою, так і ліпоксигеназою;

б) попередження процесів ПОЛ (визначали по вмісту пулів ДК та МДА – ранніх та пізніх продуктів цього окиснення);

в) запобігання перетворенню за ішемії-реперфузії малоактивної форми ксантиндегідрогенази на високоактивну ксантиноксидазу (про що свідчить значно менший за активації цих рецепторів вміст пулів сечової кислоти, що є копродуктом супероксиду при окисненні ксантиноксидазою продуктів деградації як АТФ (гіпоксантину), так і ГТФ (ксантину). Високі рівні супероксиду завдяки ферментативній дисмутації СОД і наступній неферментативній стадії генерації *ОН-радикалу, що є ініціатором ПОЛ, спричиняють окисну модифікацію ненасичених жирнокислотних залишків фосфоліпідів плазматичних і мітохондріальних мембран кардіоміоцитів, катастрофічно збільшуючи їх проникливість для іонів, в т.ч. для катіонів кальцію, що приводить до їх проникнення в мітохондрії, наслідком чого є відкриття пори МП і ініціація процесу некрозу/апоптозу кардіоміоцитів саме в зоні підвищеної генерації супероксиду. Слід зауважити, що у інтактній зоні відкривання вищезгаданих каналів не мала жодного ефекту на роботу нуклеотидного генератора супероксиду (5,1 нмоль/мг білка як у контролі, так і за їх відкривання);

г) крім пригнічення нуклеотидного генератора, відбувається обмеження генерації супероксиду його ліпідними генераторами – ліпоксигеназою та

циклооксигеназою;

д) обмеження генерації супероксиду запобігає не лише утворенню високотоксичного пероксинітриту, але й його розпаду за механізмом утворення як АФК (*ОН-радикалу), так і АФА (*NO₂), які обидва є ініціаторами ПОЛ, відкриття МП і некрозу кардіоміоцитів. Таким чином, дуже важливим для кардіопротекції за пошкоджуючої дії ішемії-реперфузії є інгібування як нуклеотидного (ксантиноксидаза), так і обох ліпідних (циклооксигеназа і, особливо, ліпоксигеза) генераторів супероксиду, який є тригером некрозу.

Сумарна активність NOS показує в цілому інтенсивність окисного *de novo* синтезу NO при окисненні L-аргініну (як конститутивного *de novo* синтезу NO при окисненні L-аргініну (eNOS + nNOS), так і індукцйбельного (iNOS) з утворенням не лише NO, але ще одного спільного для обох ізоформ NOS копродукту – цитруліну, що утворюється в еквімолярних (рівних) кількостях з NO. Однак, виміряні нами пули цитруліну в різних зонах серця при стимуляції SUR за ішемії-реперфузії не корелювали як із змінами сумарної активності NOS, так і окремих її ізоферментів. Так, якщо підвищена майже вдвічі (у 1,91 раза від нормоксії, див. табл. 4.19) сумарна активність NOS в зоні некрозу після ішемії-реперфузії за дії цих каналів достовірно знижується навіть нище рівня нормоксії (на 16%), то при цьому значно знижені (на 79% від рівня нормоксії) пули цитруліну, навпаки, підвищуються (зниження на 66%), див. табл. 4.15. Таке ж підвищення пулів цитруліну при незмінних рівнях активності сумарної NOS при стимуляції SUR мало місце в інтактній зоні (зменшення його рівнів на 61% в контролі в порівнянні 19% при активації каналів) і, в меншій мірі, в зоні ризику (зменшення на 75% в контролі та 54% за дії флокаліну). Відсутність кореляції між пулами цитруліну і активністю сумарного синтезу NO *de novo* яскраво висвітлює один з механізмів активації SUR K_{ATP}-каналів, який полягає в інгібуванні ресинтезу L-аргініну із цитруліну в цитруліновому циклі з використанням мітохондріального циклу Кребса (трикарбонових кислот), вказуючи, тим самим, на можливість регулювання цими каналами також цього циклу, а, відповідно, і утилізації кисню мітохондріями. Отже, активація SUR-рецепторів може

пригнічувати використання цитруліну для ресинтезу L-аргініну, що приводить до підвищення пулів цитруліну, і, навпаки, до інгібування активності iNOS (що показано вище), позаяк саме ця ізоформа NOS його використовує, на відміну від конститутивних eNOS, чи nNOS, що використовують в основному екзогенний L-аргінін, або утворений при гідролізі ендогенних білків.

Величина відношення активність аргінази/сумарна активність NOS, як і відношення пулів сечовини і цитруліну, показує співвідношення неокисного аргіназного метаболізму L-аргініну до його окисного метаболізму, але на відміну від відношення пулів при активації SUR (яка достовірно знижувала його в зонах ризику і некрозу), підвищена більш ніж втричі після ішемії-реперфузії, величина відношення активностей ферментів достовірно знижувалася лише в зоні ризику (у 2,31 раза). Величина відношення активність аргінази/активність iNOS в ішемізованому серці після реперфузії знижується (в інтактній зоні на 38% від рівня нормоксії, в зоні ризику на 39%, тоді як в зоні некрозу майже вдвічі більше – на 64%) завдяки значно сильнішому підвищенню активності iNOS (відповідно у 2,85, 6,91 та 18,17 раза в різних зонах серця), ніж зростанню активності аргінази (відповідно у 1,75, 4,05 та 6,53 раза понад рівнем нормоксії), див. табл. 4.14. Величина відношення активність аргінази/активність cNOS за дії ішемії-реперфузії зростає (у 2,32, 5,45 та 13,89 раза в цих зонах серця) завдяки підвищенню активності аргінази (див. вище) і, навпаки, зниженню активності конститутивного синтезу NO (відповідно на 25, 26 і 53% від рівня нормоксії), див. табл. 4.14. Стимуляція SUR попереджувала зростання відношення аргіназа/cNOS у 1,83 раза в інтактній зоні, у 2,84 та 3,87 раза в зоні ризику та некрозу відповідно. Більш складна картина з інтерпретацією впливу активації цих рецепторів на величину відношення аргіназа/iNOS. Знижені за ішемії-реперфузії величини цього відношення при стимуляції SUR достовірно не змінювалися, проте мали тенденцію до ще більшого зниження, але тільки в інтактній зоні (на 49%) і зоні ризику (на 63%), тоді як в зоні некрозу, навпаки, мали тенденцію до збільшення (зниження від значення при нормоксії лише на 51%), див. табл. 4.19. Такі зміни обумовлені різною силою системної дії (інгібування) активації цих рецепторів і на

активність аргінази, і на активність iNOS.

Відношення активності нітратредуктази і NO-синтаз характеризує співвідношення між активностями двох різних шляхів синтезу NO – реутилізаційного неокисного (при послідовному відновленні стабільного суперокисненого нітрат-аніона нітратредуктазою і нітрит-аніона нітритредуктазою) та окисного *de novo* синтезу NO при окисненні L-аргініну як cNOS, так і iNOS. Величина відношення активність нітратредуктази/сумарна активність NOS в ішемізованому серці після реперфузії є дуже високою навіть в інтактній зоні серця (збільшення у 10,14 разів понад рівнем нормоксії), не кажучи вже по зони ризику (у 15,85) і, особливо, некрозу (у 27,60 разів). Ще в більшій мірі зростає величина відношення активності нітратредуктази і активності cNOS (у 12,43, 26,18 та 112,10 разів понад рівнем нормоксії в інтактній зоні, зонах ризику і некрозу відповідно), тоді як підвищення величини відношення активностей нітратредуктази і активності iNOS (відповідно у 3,3, 2,92 та 2,9 рази понад рівнем нормоксії) було меншим (див. табл. 4.19). Отже, після ішемії-реперфузії в кардіоміоцитах значно зростає величина співвідношення неокисного реутилізаційного і окисного *de novo* синтезу NO на користь першого, що обумовлено, в основному, значною активацією редуктаз в ішемічних умовах. Що до впливу стимуляції SUR-рецепторів на ці процеси, то вони значним чином змінювали співвідношення різних шляхів синтезу NO (табл. 4.19). Зокрема, при ішемії-реперфузії величина відношення активність нітратредуктази/активність cNOS за їх відкривання знижувалася в порівнянні експериментів без їх активації в інтактній зоні у 8,82 раза, в зоні ризику та некрозу у 7,91 та 14,67 раза відповідно. Величина відношення активність нітратредуктази/активність iNOS в інтактній зоні знижувалася в порівнянні контролю у 5,74, у зоні ризику та некрозу у 4,6 та 2,77 раза відповідно. Результатом чого є зміна величини відношення активність нітратредуктази/сумарна активність NOS, яка при стимуляції SUR в інтактній зоні, ризику та некрозу зменшувалася у 7,99, 6,46 та 5,47 раза відповідно.

Величина індексу оксигенації, розрахованого на основі даних про пули нітрит- і нітрат-аніонів, та сечовини, після ішемії-реперфузії в інтактній зоні

серця практично не змінювалася (-3% від рівня нормоксії), засвідчуючи свою адекватність наявним рівням кисню, тоді як в зоні ризику знижувалася від рівня нормоксії у 3,72 раза, а в зоні некрозу – у 21 раз, що є наслідком значної ішемії. Антиішемічна дія стимуляції SUR-рецепторів була настільки сильною, що в інтактній зоні величина індексу оксигенації збільшувалася на 40% від рівня нормоксії, а в зонах ризику і некрозу була більшою у 1,78 та 17,4 раза відповідно, в порівнянні до експериментів без активації цих рецепторів (див. табл. 4.19).

Значення відношення пулів ейкозаноїдів (TxB_2/LTC_4), продуктів різних ліпідних оксигеназ практично не змінювалася в різних зонах серця за дії ішемії-реперфузії (збільшення на 5, 4 та 6% від нормоксії), проте підвищується більш ніж вдвічі (а саме, у 2,22 та 2,29 раза в зоні ризику і некрозу відповідно) за активації вищезазначених рецепторів (див. табл. 4.19). Що може свідчити про переважне інгібування синтезу лейкотриєнів (ліпоксигеназного генератора супероксиду), порівняно з інгібуванням синтезу тромбоксану (циклооксигеназного генератора), що може мати суттєве значення для синтезу протекторних простагландинів (в т.ч. простацикліну) та попереджувати коронароконстрикторну, проаритмічну і прозапальну дію лейкотриєну C_4 .

Частка нітрит-аніона в сумі пулів субстратів для реутилізаційного синтезу NO (нітрит-аніона для нітритредуктази і нітрат-аніона для нітратредуктази) за дії ішемії-реперфузії достовірно зменшується в зоні ризику (на 69% від вихідного рівня нормоксії) і ще більше в зоні некрозу (на 92%). Причому, при активації SUR частка нітрит-аніона в останній зростала у 6 разів (див. табл. 4.19). Що може свідчити як про предомінантне зростання пулів нітрит-аніона (внаслідок потужної антиішемічної дії цих каналів), так і можливе інгібування нітритредуктазної активності, як і аналогічне, можливе, підвищення пулів нітрат-аніона внаслідок інгібування нітратредуктазної активності, а не лише внаслідок нерадикального розпаду пероксинітриту. Відомо, що нітрит-аніон утворюється лише в умовах достатньої оксигенації розчинів, водночас як нітрат-аніон лише в умовах одночасної активації як оксидативного (генерації АФК), так і нітрозативного (генерації АФА) стресу.

Показники зміни частки iNOS в сумарній активності NOS вказують на значне підвищення останньої за дії ішемії-реперфузії (у 3,12, 5,52 та 9,57 разів від рівня нормоксії в інтактній зоні, зонах ризику і некрозу відповідно), а також на її зниження при стимуляції SUR у цих же зонах у 1,39, 1,4 та 1,97 разів відповідно. І навпаки, в експериментах без активації цих рецепторів частка cNOS в сумарній активності NOS була зменшеною у всіх зонах міокарда та підвищувалася при їх активації, зокрема в зоні некрозу у 2,68 (див. табл. 4.19).

Сумарні пули нітрозотіолів (НМНТ+ВМНТ) за ішемії-реперфузії достовірно зростають в порівнянні рівня нормоксії і в зоні ризику (у 3,3 разів), і в зоні некрозу (у 4,28 разів), знижуючись в обох зонах при стимуляції SUR-рецепторів (відповідно у 1,75 та 1,85 разів) в порівнянні до контролю, в основному за рахунок предомінантного зниження пулів ВМНТ, тобто кардіотоксичного нітрозилювання ендогенних білків кардіоміоцитів (див. табл. 4.19).

Частка нітрит-аніона в загальній сумі нітрит-аніона і нітрозотіолів, як і в сумі нітрит- і нітрат-аніонів, за ішемії-реперфузії достовірно знижується в зоні ризику серця (на 59% від рівня нормоксії), в зоні некрозу на 92% (див. табл. 4.19). Стимуляція SUR підвищувала цю частку в інтактній зоні, ризику та некрозу у 1,61, 1,86 та 9,13 разів відповідно порівняно з експериментами без активації рецептора. Частка НМНТ в сумі нітрит-аніона і нітрозотіолів була стабільною за дії ішемії-реперфузії і не змінювалася при стимуляції SUR. Частка ВМНТ в сумі нітрит-аніона і нітрозотіолів достовірно зростала від рівня нормоксії в зоні ризику у 2,2, в зоні некрозу у 2,79 та інтактній у 1,5 разів, знижуючись при активації SUR та відкриванні K_{ATP} -каналів у всіх зонах серця – інтактній, ризику та некрозу у 2, 1,46 та 1,8 разів відповідно (див. табл. 4.19).

Таким чином, дослідження змін біохімічних показників в різних зонах серця при ішемії-реперфузії та активації SUR-рецепторів K_{ATP} -каналів дозволило ідентифікувати декілька можливих кардіопротекторних механізмів. Вони полягають в інгібуванні окисного метаболізму за рахунок обмеження генерації АФК – супероксид-аніону, пероксиду водню та гідроксил-радикалу (оксидативного стресу, в т.ч. процесу ПОЛ); інгібуванні надлишкового

індуцибельного і реутилізаційного синтезу оксиду азоту, і утворення пероксинітриту (нітрозативного стресу, що також приводить до активації ПОЛ внаслідок вільнорадикального розпаду пероксинітриту); інгібуванні утворення вільної арахідонової кислоти та ейкозаноїдів; інгібуванні деградації АТФ і ГТФ; та, навпаки, в стимуляції гемоксигеназної реакції. Кардіопротекцією можна вважати пригнічення деградації L-аргініну аргіназою і утворення сечовини. Проте дуже важливим механізмом кардіопротекторної дії активації SUR-рецепторів ймовірно є стабілізація конститутивного *de novo* синтезу оксиду азоту, чому може сприяти також підвищення рівнів сфінгозину [28, 84, 93].

4.2.2.3. Зміна біохімічних показників плазми крові при стимуляції SUR-рецепторів за ішемії-реперфузії міокарда.

Зміни біохімічних показників у плазмі крові в динаміці ішемії-реперфузії досліджували при активації SUR-рецепторів за допомогою флокаліну-Л (2,2 мг/кг, n=7) – результати досліджень представлено в табл. 4.20 - 4.22, 4.24, 4.25, 4.27 - 4.30 та 4.32 - 4.34, та – флокаліну-Зд (2,2 мг/кг, n=6) – результати представлено в табл. 4.23, 4.26, 4.31 та 4.35. Отримані дані змін біохімічних показників у плазмі крові є подібними до приведених вище у міокарді [28, 73, 81, 93, 491].

Зокрема, одним із кардіопротекторних механізмів активації SUR є потужний вплив на систему оксиду азоту (табл. 4.20 - 4.26). В контрольних експериментах (n=7) на протязі ішемії-реперфузії міокарда в плазмі крові значно зростає активність ферменту Ca^{2+} -незалежної iNOS, з максимальним збільшенням у 7,46 раза на кінець реперфузії (рис. 4.36, а). Натомість швидкість сумарного конститутивного Ca^{2+} -залежного синтезу оксиду азоту (в основному цитозольним ізоферментом eNOS і ізоферментом nNOS в мітохондріях), навпаки, пригнічена, з максимальним зменшенням у 2,88 раза на кінець ішемії (рис. 4.36, б). Значно зростає також неокисна деградація L-аргініну ферментом аргіназою, з максимальним збільшенням у 17,49 раза на 120 хв реперфузії (рис. 4.37), що, за рахунок обмеження пулів спільного субстрату (L-аргініну), створює умови для одночасної генерації супероксиду і оксиду азоту всіма ізоферментами NOS і, тим

самим, зумовлює утворення пероксинітриту і реалізацію його пошкоджуючої дії.

Таблиця 4.20

Вплив активації SUR-рецепторів K_{ATP} -каналів на зміни різних ізоформ NOS у плазмі крові собак при ішемії-реперфузії міокарда, ($M \pm m$)

Умови досліджу	Час (хв)	iNOS, пмоль/хв мг білка		cNOS, пмоль/хв мг білка	
		I-P	Активация SUR + I-P	I-P	Активация SUR + I-P
Вихідне значення	0	$2,94 \pm 0,31$	$3,42 \pm 0,29$	$5,78 \pm 0,42$	$5,96 \pm 0,66$
Активация SUR	30		$3,23 \pm 0,36$		$6,40 \pm 0,98$
	60		$2,61 \pm 0,47$		$7,62 \pm 1,12$
Ішемія	10	$7,34 \pm 0,89^*$	$3,25 \pm 0,46^{**}$	$2,76 \pm 0,34^*$	$7,51 \pm 0,80^{**}$
	60	$7,83 \pm 1,13^*$	$3,32 \pm 0,50^{**}$	$3,23 \pm 0,49^*$	$7,07 \pm 0,95^{**}$
	90	$8,50 \pm 1,35^*$	$4,94 \pm 0,53^{**/*}$	$2,01 \pm 0,40^*$	$5,90 \pm 0,78^{**}$
Реперфузія	10	$11,51 \pm 1,74^*$	$2,89 \pm 0,47^{**}$	$3,74 \pm 0,69^*$	$4,90 \pm 0,50$
	60	$12,87 \pm 1,95^*$	$3,22 \pm 0,42^{**}$	$4,45 \pm 0,75$	$5,40 \pm 0,66$
	90	$14,14 \pm 1,70^*$	$3,62 \pm 0,57^{**}$	$5,06 \pm 0,85$	$5,62 \pm 0,72$
	120	$20,54 \pm 2,52^*$	$4,07 \pm 0,38^{**}$	$5,36 \pm 0,79$	$6,87 \pm 0,85$
	180	$21,92 \pm 3,14^*$	$4,38 \pm 0,71^{**}$	$5,35 \pm 0,81$	$9,54 \pm 0,99^{**/*}$

Примітки: тут та в табл. 4.21 - 4.27 та 4.30 - 4.35:

1. Вихідне значення – умови нормоксії,
2. I-P – ішемія-реперфузія,
3. * $P < 0,05$ по відношенню до вихідного рівня,
4. ** $P < 0,05$ порівняно зі значеннями при ішемія-реперфузія без активації SUR.

Водночас стимуляції SUR-рецепторів пригнічує стимульовані ішемією-реперфузією біохімічні реакції. Так, активність ферменту iNOS за їх відкривання суттєво не відрізняється від вихідного рівня (умови нормоксії) та істотно зменшується порівняно з ішемією-реперфузією без їх активації, з максимумом у 2,36 раза на 60 хв ішемії та у 5 разів на третій годині реперфузії (рис. 4.36, а).

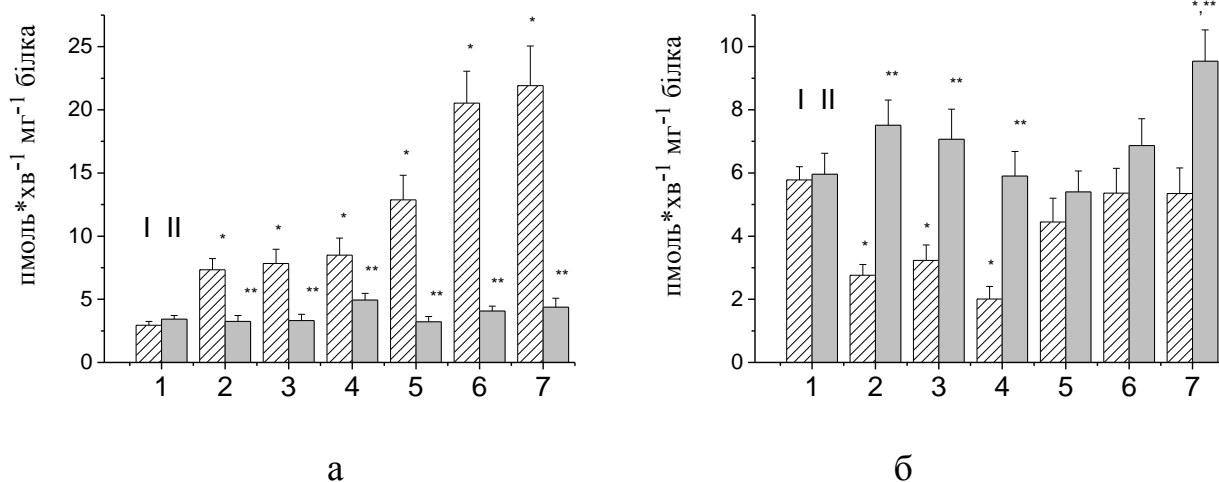


Рис. 4.36 Зміна активності ферментів індукцйбельної (а) та конститутивної NO-синтаз (б) у плазмі крові собак при ішемії-реперфузії міокарда у контролі (І) та при активації SUR-рецепторів (ІІ); 1– вихідне значення за умов нормоксії, 2-4 – 10-та, 60-та і 90-та хвилини ішемії; 5-7 – 60-та, 120-та і 180-та хвилини реперфузії, * $P < 0,05$ порівняно з вихідним рівнем (нормоксією), ** $P < 0,05$ порівняно з контрольними значеннями (ішемія-реперфузія без активації SUR)

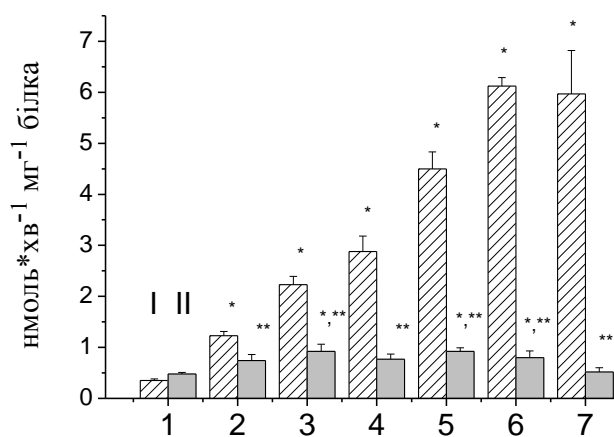


Рис. 4.37 Зміна активності ферменту аргінази в плазмі крові собак при ішемії-реперфузії міокарда в дослідях *in vivo* у контролі (І) та при активації SUR-рецепторів (ІІ); 1– вихідне значення за умов нормоксії, 2-4 – 10-та, 60-та і 90-та хвилини ішемії; 5-7 – 60-та, 120-та і 180-та хвилини реперфузії, * $P < 0,05$ порівняно з вихідним рівнем (нормоксією), ** $P < 0,05$ порівняно з контрольними значеннями (ішемія-реперфузія без активації SUR)

Таблиця 4.21

Вплив активації SUR флокаліном-Л на зміни активності ферменту аргінази і вмісту сечовини в плазмі крові собак за ішемії-реперфузії міокарда, ($M \pm m$)

Умови досліджу	Час, хв.	Аргіназа, нмоль/хв мг білка		Сечовина, пмоль/мг білка	
		I-P	Активация SUR + I-P	I-P	Активация SUR + I-P
Вихідне значення	0	$0,35 \pm 0,03$	$0,48 \pm 0,03$	$243,3 \pm 31,0$	$276,2 \pm 25,4$
Активация SUR	30		$0,65 \pm 0,08$		$241,8 \pm 36,6$
	60		$0,61 \pm 0,1$		$292,4 \pm 41,0$
Ішемія	10	$1,23 \pm 0,08^*$	$0,74 \pm 0,12^{**}$	$333,3 \pm 52,02$	$440,1 \pm 50,02^{*/**}$
	60	$2,23 \pm 0,16^*$	$0,92 \pm 0,14^{*/**}$	$351,1 \pm 28,5^*$	$474,3 \pm 68,4^{*/**}$
	90	$2,88 \pm 0,30^*$	$0,77 \pm 0,10^{**}$	$306,5 \pm 39,1$	$514,8 \pm 91,5^{*/**}$
Реперфузія	10	$3,58 \pm 0,27^*$	$0,69 \pm 0,09^{**}$	$273,2 \pm 34,7$	$413,5 \pm 59,0^*$
	60	$4,50 \pm 0,33^*$	$0,92 \pm 0,07^{*/**}$	$352,5 \pm 53,1$	$417,4 \pm 54,6^*$
	90	$5,45 \pm 0,42^*$	$1,18 \pm 0,11^{*/**}$	$328,2 \pm 60,0$	$438,4 \pm 62,1^{*/**}$
	120	$6,12 \pm 0,17^*$	$0,80 \pm 0,13^{*/**}$	$219,7 \pm 36,5$	$225,9 \pm 38,6$
	180	$5,97 \pm 0,85^*$	$0,52 \pm 0,08^{**}$	$212,4 \pm 22,06$	$219,5 \pm 24,3$

Слід зауважити, що при активації SUR-рецепторів через годину після введення флокаліну-Л, ще до початку ішемії, активність ферменту iNOS знижувалася у 1,31 раза (табл. 4.20). Аналогічні зміни на протязі ішемії-реперфузії відбуваються і з активністю ферменту аргінази (див. рис. 4.37, табл. 4.21). В дослідях зі стимуляцією вищезгаданих рецепторів вона була значно зменшеною порівняно з експериментами без неї, з найбільшим значенням у 3,74 раза на 90-й хвилині ішемії та у 11,48 раза на кінець реперфузії. Натомість, кращими на фоні активації SUR були показники активності ферментів cNOS (див. рис. 4.36, б). Якщо без активації цих рецепторів їх активність була дещо пригнічена, особливо під час ішемії, то через годину після активації, ще до початку ішемії, їх активність підвищувалася у 1,28 раза (порівняно з умовами нормоксії) та була такою протягом першої години ішемії (табл. 4.20). Значно

посилювалася активність cNOS також у кінці реперфузії – у 1,6 раза. Відповідно, вона була збільшеною порівняно з експериментами без стимуляції цих рецепторів, а саме у 2,72 та 2,93 на 10-й та 90-й хвилині ішемії, та у 1,78 раза на 180-й хвилині реперфузії (рис. 4.36, б). Слід зауважити, що якщо активація SUR за ішемії-реперфузії міокарда лише попереджало зниження активності ферменту cNOS в різних зонах серця, то біохімічний аналіз плазми крові показав її підвищення [28, 491].

Зміни біохімічних показників у плазмі крові собак в динаміці дії ішемії-реперфузії свідчать, що ще одним кардіопротекторним механізмом активації вищезгаданих рецепторів є інгібування МП неспецифічної провідності, та відповідно, апоптозу та некрозу кардіоміоцитів. Адже одним із регуляторів МП є оксид азоту. Причому, особливо важливим є його вміст в мітохондріях кардіоміоцитів – помірні рівні чинять інгібуючу дію на її відкривання індукторами (Ca^{2+} , АФК), тоді як високі рівні, навпаки, чинять проапоптичну дію. Тобто, посилення конститутивного синтезу оксиду азоту безпосередньо в мітохондріях за активації міто- K_{ATP} -каналів може пригнічувати відкривання МП.

Як зазначалося вище, в різних зонах серця за ішемії-реперфузії міокарда активація SUR запобігало значному зменшенню вмісту такого показника синтезу оксиду азоту (шляхом *de novo* при окисненні L-аргініну за дії всіх ізоферментів NOS) як цитрулін. Аналіз змін вмісту якого за ішемії-реперфузії міокарда в плазмі крові анестезованих собак виявив його збільшення. Як при активації вищезазначених рецепторів флокаліном-Л, так і флокаліном-Зд (табл. 4.22 та 4.23), що добре співвідноситься як із збереженням високої активності ферменту cNOS, так і зі зниженням активності ферменту аргінази (див. рис. 4.36, б та 4.37) [28, 73, 81, 90, 93, 491].

Отже, біохімічні дослідження показників плазми крові підтвердили, що одним із кардіопротекторних механізмів активації SUR слід вважати інгібування надлишкового індукцибельного синтезу оксиду азоту і деградації L-аргініну аргіназою, що забезпечує збереження субстрату (L-аргініну) для конститутивного синтезу оксиду азоту та водночас посилення цього синтезу.

Таблиця 4.22

Вплив активації SUR-рецепторів флокаліном-Л на зміни пулів цитруліну і сечової кислоти в плазмі крові собак за ішемії-реперфузії міокарда, ($M \pm m$)

Умови досліджу	Час (хв)	Цитрулін, нмоль/мг білка		Сечова кислота, нмоль/мг білка	
		I-P	Активация SUR + I-P	I-P	Активация SUR + I-P
Вихідне значення	0	62,5 ± 4,9	66,7 ± 9,3	1,26 ± 0,08	1,89 ± 0,15
Активация SUR	30		80,6 ± 11,4		1,72 ± 0,19
	60		83,1 ± 10,5		2,46 ± 0,11
Ішемія	10	70,0 ± 9,4	55,9 ± 8,1	1,73 ± 0,22	1,95 ± 0,22
	60	68,9 ± 7,2	84,3 ± 12,5	2,83 ± 0,19*	2,01 ± 0,15
	90	64,8 ± 8,5	80,5 ± 2,4	3,09 ± 0,56*	2,35 ± 0,31
Реперфузія	10	68,9 ± 7,7	130,7 ± 21,7*/**	4,19 ± 0,73*	2,79 ± 0,40*
	60	70,9 ± 8,2	120,6 ± 19,8*	5,60 ± 0,82*	3,89 ± 0,54*/**
	90	71,4 ± 4,9	131,6 ± 16,9*/**	12,10 ± 1,16*	3,69 ± 0,60*/**
	120	71,6 ± 5,5	122,0 ± 15,4*/**	10,12 ± 1,43*	4,52 ± 0,73*/**
	180	82,3 ± 7,4*	93,2 ± 12,3	6,30 ± 0,85*	4,80 ± 0,80*/**

Таблиця 4.23

Вплив активації SUR-рецепторів флокаліном-3д (2,2 мг/кг) на зміни пулів цитруліну і сечової кислоти в плазмі крові за ішемії-реперфузії міокарда, ($M \pm m$)

Умови досліджу	Час (хв)	Цитрулін, нмоль/мг білка		Сечова кислота, нмоль/мг білка	
		I-P	Активация SUR + I-P	I-P	Активация SUR + I-P
Вихідне значення	0	62,5 ± 4,9	64,7 ± 5,0	1,26 ± 0,08	1,75 ± 0,1
Активация SUR	30		79,0 ± 9,4		1,63 ± 0,20
	60		84,8 ± 11,5		1,97 ± 0,27
Ішемія	10	70,0 ± 9,4	62,5 ± 8,7	1,73 ± 0,22	1,84 ± 0,23
	90	64,8 ± 8,5	72,7 ± 7,6	3,09 ± 0,56*	2,27 ± 0,34
Реперфузія	10	68,9 ± 7,7	99,8 ± 10,9*/**	4,19 ± 0,73*	3,94 ± 0,55*
	60	71,4 ± 4,9	96,0 ± 13,6**	12,10 ± 1,16*	7,98 ± 1,14*
	120	71,6 ± 5,5	97,0 ± 15,8	10,12 ± 1,43*	7,23 ± 1,20*
	180	82,3 ± 7,4*	87,9 ± 11,2	6,30 ± 0,85*	5,55 ± 0,84*

Як і в експериментах з вимірюванням активності ферменту нітратредуктази в різних зонах ішемізованого міокарда, показником потужної антиішемічної дії активації SUR-рецепторів може бути і вміст у плазмі крові пулів нітрит-аніона (табл. 4.24, рис. 4.38). В контрольних експериментах протягом всієї ішемії-реперфузії міокарда має місце значне зменшення в плазмі крові вмісту пулів нітрит-аніона від вихідного рівня максимально у 2,23 раза на 90 хв ішемії та у 2,17 раза на 60 та 180 хв реперфузії. Водночас активація цих рецепторів протягом години підвищувала їх вміст у 1,34 раза. З початком ішемії рівень останнього продовжував триматися збільшеним, зокрема у 1,32 та 1,26 раза на 60-й та 90-й хвилині ішемії відповідно, порівняно з контрольними значеннями. З початком реперфузії він продовжував зростати та досягав максимальних значень на третю годину реперфузії – у 1,69 та 1,66 раза на 120-й та 180-й хвилині відповідно (рис. 4.38).

Таблиця 4.24

Вплив активації SUR-рецепторів на зміни пулів стабільних метаболітів NO у плазмі крові собак за ішемії-реперфузії міокарда, ($M \pm m$)

Умови досліджу	Час (хв)	NO ₂ ⁻ , пмоль/мг білка		NO ₃ ⁻ , нмоль/мг білка	
		I-P	Активация SUR + I-P	I-P	Активация SUR + I-P
Вихідне значення	0	74,8 ± 6,2	64,0 ± 9,6	29,03 ± 2,2	27,8 ± 1,7
Активация SUR	30		53,6 ± 7,2		27,1 ± 2,2
	60		85,5 ± 9,4		30,4 ± 4,9
Ішемія	10	47,6 ± 4,9*	55,9 ± 8,1	24,5 ± 3,6	39,9 ± 4,8
	60	40,6 ± 3,6*	84,3 ± 12,5**	25,7 ± 1,8	32,2 ± 2,4
	90	33,6 ± 5,4*	80,5 ± 12,4**	28,7 ± 4,9	27,5 ± 2,6
Реперфузія	10	51,8 ± 9,2	98,1 ± 12,9*/**	31,3 ± 2,5	30,4 ± 4,6
	60	34,4 ± 4,4*	90,9 ± 12,6*/**	29,6 ± 4,0	40,1 ± 5,9*
	90	47,5 ± 5,0	101,2 ± 17,2*/**	33,2 ± 5,8	35,6 ± 5,0
	120	39,9 ± 5,3*	108,2 ± 13,8*/**	33,4 ± 4,9	25,3 ± 3,8
	180	34,5 ± 4,7*	106,4 ± 11,5*/**	75,1 ± 3,6*	23,5 ± 3,2**

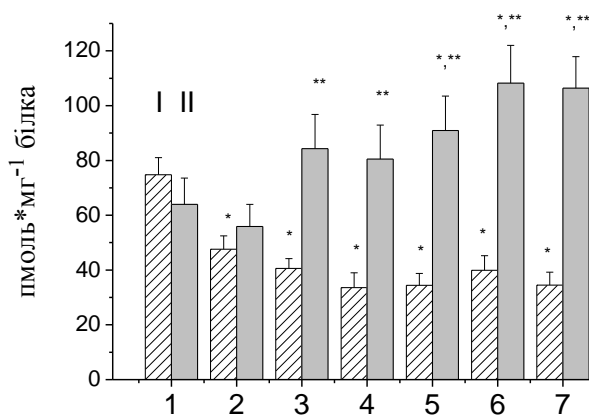


Рис. 4.38 Зміна вмісту нітрит-аніона в плазмі крові собак при ішемії-реперфузії міокарда в дослідях *in vivo* у контролі (I) та при активації SUR-рецепторів (II); 1 – вихідне значення за умов нормоксії, 2-4 – 10-та, 60-та і 90-та хвилини ішемії; 5-7 – 60-та, 120-та і 180-та хвилини реперфузії, * $P < 0,05$ порівняно з вихідним рівнем (нормоксією), ** $P < 0,05$ порівняно з контрольними значеннями (ішемія-реперфузія без активації SUR)

В табл. 4.25 представлені зміни пулів НМНТ та ВМНТ у плазмі крові собак за ішемії-реперфузії та активації SUR-рецепторів K_{ATP} -каналів. Перші утворюються за дії як самого оксиду азоту, так і деяких його активних метаболітів, наприклад N_2O_3 , що утворюється при спонтанному не ферментативному окисненні NO в присутності металів перемінної валентності (Fe_{2+}). За стимуляції SUR в кінці реперфузії спостерігається їх деяке підвищення (табл. 4.25). Фізіологічне значення цього процесу може полягати в регуляції вмісту вільного глутатіону, який в умовах окисного стресу може утворювати токсичні вільні радикали, але з другого боку, цей процес нітрозилювання відіграє винятково важливе значення для утворення довготривалих циркулюючих пулів NO, який може звільнятися при декомпозиції (гідролізі) НМНТ і є важливим донором фізіологічно-активного і нетоксичного NO.

ВМНТ є нітрозильованими білками плазми крові і утворюються таким же чином як і НМНТ. Активація SUR при ішемії-реперфузії міокарда не дало чітких змін їх вмісту в плазмі артеріальної крові собак. Спостерігається як його

збільшення (90-та хвилина ішемії), так і зменшення (кінець реперфузії), див. табл. 4.25. Фізіологічне значення цього феномену не зовсім зрозуміле, про те, процес нітрозилування білків має регуляторний характер та є механізмом депонування надлишкового NO.

Таблиця 4.25

Вплив активації SUR-рецепторів флокаліном-ЛІ (2,2 мг/кг) на зміни пулів нітрозотіолів у плазмі крові собак за ішемії-реперфузії міокарда, ($M \pm m$)

Умови досліджу	Час, хв.	НМНТ, пмоль/мг білка		ВМНТ, пмоль/мг білка	
		I-P	Активация SUR + I-P	I-P	Активация SUR + I-P
Вихідне значення	0	10,34 \pm 1,5	10,3 \pm 1,7	270,06 \pm 33,2	267,6 \pm 24,1
Активация SUR	30		9,9 \pm 1,3		187,05 \pm 16,5
	60		16,0 \pm 1,9		335,3 \pm 45,2
Ішемія	10	11,3 \pm 1,6	9,5 \pm 0,8	213,3 \pm 18,7	289,4 \pm 30,9
	60	8,8 \pm 0,9	10,2 \pm 1,5	232,3 \pm 30,05	376,8 \pm 48,4*
	90	7,4 \pm 1,1	10,6 \pm 1,1	489,03 \pm 52,11*	698,1 \pm 110,1*/**
Реперфузія	10	8,9 \pm 1,3	10,8 \pm 1,6	219,4 \pm 35,2	225,5 \pm 34,3
	60	18,0 \pm 2,4	20,1 \pm 3,6*	187,7 \pm 14,8	279,1 \pm 50,5
	90	12,2 \pm 1,7	12,3 \pm 1,8	175,3 \pm 24,4	228,2 \pm 19,8
	120	10,9 \pm 1,9	16,0 \pm 2,7*/**	165,2 \pm 19,0	172,8 \pm 31,1*
	180	8,5 \pm 1,3	14,0 \pm 1,9**	466,0 \pm 72,2*	168,5 \pm 20,6*/**

Таким чином, аналіз змін вмісту пулів нітрозотіолів у плазмі артеріальної крові анестезованих тварин, на відміну від їх вмісту в різних зонах лівого шлуночка (спостерігається зменшення), показав, що вони не мають чіткого характеру. Не мали вони однонаправленості і в аналогічних експериментах при активації SUR-рецепторів за перорального введення флокаліну-3д (табл. 4.26).

Аналіз біохімічних показників плазми крові та різних зон лівого шлуночка при помірній стимуляції SUR субстанцією та таблетками флокаліну за ішемії-реперфузії міокарда дозволив вперше показати, що активація цих рецепторів

пригнічує вільнорадикальні реакції та має антиокиснювальні властивості, призводить до обмеження як оксидативного, так і нітрозативного стресу, попереджує зниження активності ферментів антиоксидантної системи – каталази та супероксиддисмутази. Аналогічні ефекти активації цих рецепторів спостерігалися і в інших експериментах, а саме, при пероральному введенні таблеток флокаліну-ЛІ та флокаліну-Зд. Зокрема, в контрольних експериментах вміст H_2O_2 під час ішемії та реперфузії значно збільшується, максимально у 11,76 та 7,59 рази протягом ішемії та реперфузії відповідно (табл. 4.27, рис. 4.39), вказуючи на значне зростання генерації супероксиду. Водночас активація SUR-рецептору флокаліном-ЛІ достовірно зменшувала пули пероксиду водню, а, отже, і генерацію супероксид-аніону, адже перший утворюється з останнього за дії СОД. Зокрема, порівняно з даними за ішемії-реперфузії на 10-й і 60-й хвилині ішемії вміст пулів був зменшений відповідно у чотири та 3,47 рази. Протягом реперфузії він був знижений вдвічі з і ще більшим зменшенням – у 2,5 рази на 180-й хвилині (табл. 4.27, рис. 4.39) [28, 73, 81, 93, 491, 492].

Таблиця 4.26

Вплив активації SUR-рецепторів флокаліном-Зд (2,2 мг/кг) на зміни пулів нітрозотіолів у плазмі крові собак за ішемії-реперфузії міокарда, ($M \pm m$)

Умови досліджу	Час (хв)	НМНТ, пмоль/мг білка		ВМНТ, пмоль/мг білка	
		I-P	Активация SUR + I-P	I-P	Активация SUR + I-P
Вихідне значення	0	10,34 ± 1,5	11,2 ± 0,95	270,06 ± 33,2	239,5 ± 18,2
Активация SUR	30		10,5 ± 1,40		161,4 ± 19,8
	60		13,6 ± 1,71		272,6 ± 35,4
Ішемія	10	11,3 ± 1,6	10,2 ± 1,50	213,3 ± 18,7	280,9 ± 36,8
	90	7,4 ± 1,1	11,4 ± 1,32**	489,03 ± 52,11*	517,9 ± 74,2*
Реперфузія	10	8,9 ± 1,3	11,7 ± 1,71	219,4 ± 35,2	422,8 ± 61,8*/**
	60	18,0 ± 2,4	13,6 ± 1,62	187,7 ± 14,8	398,1 ± 55,4*/**
	120	10,9 ± 1,9	15,2 ± 2,15**	165,2 ± 19,0	407,5 ± 47,2*/**
	180	8,5 ± 1,3	16,1 ± 2,41**	466,0 ± 72,2*	182,4 ± 25,4**

Таблиця 4.27

Вплив активації SUR-рецепторів флокаліном-Л на зміни АФК (H_2O_2) та продуктів ПОЛ (дієнові кон'югати) у плазмі крові за ішемії-реперфузії міокарда, ($\text{M} \pm \text{m}$)

Умови досліджу	Час (хв)	H_2O_2 , пмоль/мг білка		ДК, нг/мг білка	
		I-P	Активация SUR + I-P	I-P	Активация SUR + I-P
Вихідне значення	0	$0,49 \pm 0,07$	$0,51 \pm 0,05$	$4,23 \pm 0,36$	$4,80 \pm 0,7$
Активация SUR	30		$0,44 \pm 0,11$		$4,35 \pm 0,53$
	60		$0,51 \pm 0,09$		$4,15 \pm 0,84$
Ішемія	10	$4,15 \pm 0,43^*$	$1,05 \pm 0,13^{*/**}$	$12,28 \pm 1,18^*$	$13,42 \pm 1,89^*$
	60	$5,76 \pm 1,29^*$	$1,66 \pm 0,19^{*/**}$	$22,695 \pm 3,46^*$	$16,95 \pm 2,26^{*/**}$
	90	$3,81 \pm 0,56^*$	$1,85 \pm 0,17^{*/**}$	$23,22 \pm 2,08^*$	$17,54 \pm 1,94^{*/**}$
Реперфузія	10	$3,72 \pm 0,44^*$	$1,96 \pm 0,15^{*/**}$	$31,37 \pm 4,55^*$	$17,86 \pm 2,68^{*/**}$
	60	$2,27 \pm 0,25^*$	$1,12 \pm 0,10^{*/**}$	$30,67 \pm 5,42^*$	$16,74 \pm 2,55^{*/**}$
	90	$2,00 \pm 0,15^*$	$1,03 \pm 0,09^{*/**}$	$28,73 \pm 3,96^*$	$14,95 \pm 1,71^{*/**}$
	120	$2,30 \pm 0,18^*$	$1,13 \pm 0,11^{*/**}$	$23,26 \pm 4,18^*$	$14,38 \pm 1,64^{*/**}$
	180	$2,64 \pm 0,33^*$	$1,05 \pm 0,18^{*/**}$	$22,46 \pm 3,91^*$	$9,55 \pm 1,50^{*/**}$

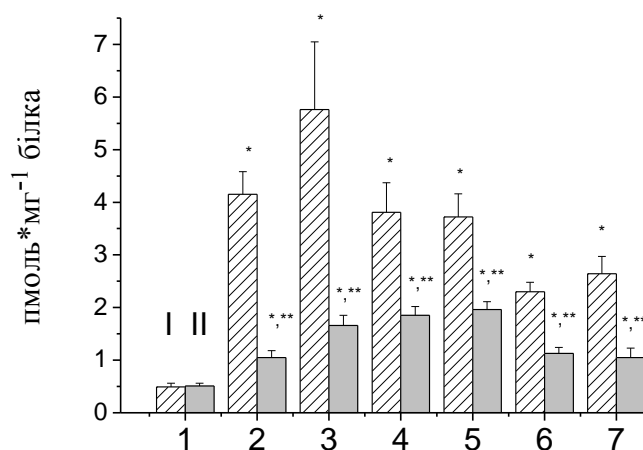


Рис. 4.39 Зміна вмісту пероксиду водню у плазмі крові собак при ішемії-реперфузії міокарда в дослідках *in vivo* у контролі (I) та при активації SUR-рецепторів (II); 1– вихідне значення за умов нормоксії, 2-4 – 10-та, 60-та і 90-та хвилини ішемії; 5-7 – 60-та, 120-та і 180-та хвилини реперфузії, * $P < 0,05$ порівняно з вихідним рівнем (нормоксією), ** $P < 0,05$ порівняно з контрольними значеннями (ішемія-реперфузія без активації SUR)

Зменшення утворення вільних радикалів кисню при активації SUR-рецепторів за ішемії-реперфузії міокарда було підтверджено при вимірюванні H_2O_2 -індукованої ХЛ плазми крові собак, адже вона є сумарним показником активації вільнорадикальних процесів. Отримані дані біохімічних досліджень підтвердили, що ішемія та наступна реперфузія призводять до активації вільнорадикальних процесів (табл. 4.28).

Таблиця 4.28

Вплив активації SUR-рецепторів флокаліном-Л на зміни хемілюмінесценції
(у мВ/с) у плазмі крові собак за ішемії-реперфузії, ($M \pm m$)

Умови досліджу	Час (хв)	I ₀ амплітуда швидкого спалаху		Σ5 загальна світлосума за 5 хв		I ₅ кінцеве значення інтенсивності випромінення	
		I-P	Активация SUR + I-P	I-P	Активация SUR + I-P	I-P	Активация SUR + I-P
Вихідне значення	0	110,25 ±12,4	98,83 ±5,3	25561,15 ±2232,8	22738,24 ±1185,5	67,28 ± 6,1	60,5 ±2,3
Ішемія	10	149,28 ±8,7		28570,91 ±1531,6		62,0 ± 3,7	
	90	188,33 ±15,3	159,36 ±14,4	39559,23 ±3324,5	34440,93 ±1577,0	77,14 ± 6,7	72,55 ±4,2
Реперфузія	60	274,16 ±22,5	187,23 ±15,2*	52570,18 ±2220,1	36701,48 ±2800,8*	95,42 ± 9,4	78,41±4,9
	120	311,0 ±29,1	202,5 ±11,5*	59424,58 ±3583,23	38228,48 ±2795,4*	101,83 ± 5,5	75,09 ±5,8*
	180	398,83 ±19,1	248,87 ±19,8*	59567,14 ±2475,8	39234,82 ±3827,1*	125,14 ± 7,1	96,62 ±8,3*

Примітка. *P<0,05 порівняно з контрольними значеннями (ішемія-реперфузія без активації SUR).

Вимірювалися слідувачі кінетичні параметри ХЛ: загальна світлосума реакції за 5 хв (Σ5), інтенсивність швидкого спалаху (I₀) та швидкість затухання

ХЛ (I_5). В контрольних експериментах спостерігалось значне зростання ХЛ за усіма кінетичними показниками. Так, якщо на 10 хв. ішемії загальна світлосума ХЛ за 5 хв реєстрації збільшувалася на 11,8%, то на 90-й хвилині ішемії майже на 90% від вихідного рівня. Також спостерігалось збільшення кінцевого значення інтенсивності випромінювання через 5 хв (I_5) по величині якого можна судити про швидкість затухання ХЛ та опосередковано про стан антиоксидантної системи. Цей показник збільшувався на 14,7% (90-й хвилині ішемії), а амплітуда швидкого спалаху (I_0) збільшувалася ще стрімкіше – на 35,4% (10-й хвилині ішемії) та на 70,8% на 90-й хвилині ішемії порівняно з вихідним рівнем (див. табл. 4.28).

Реперфузія призводила до ще більш інтенсивного зростання перекисних процесів. Так на 60 хв реперфузії Σ_5 збільшувалася вдвічі, на 120 хв - у 2,3 раза ($P<0,05$) від вихідного рівня (рис. 4.40), проте I_5 зростала не так стрімко на 60 хв - на 41,8% ($P<0,05$), на 120 хв 51,4% ($P<0,05$), а на 180 хв - на 86 % від вихідного рівня, що свідчить про зниження активності ферментів антиоксидантної системи (рис. 4.41 б). Амплітуда швидкого спалаху впродовж реперфузії збільшувалася в середньому у 2,5 та 3,4 раза ($P<0,05$) відповідно на 60 та 120 хв реперфузії, що свідчило про збільшення активації вільнорадикальних процесів (рис. 4.41, а).

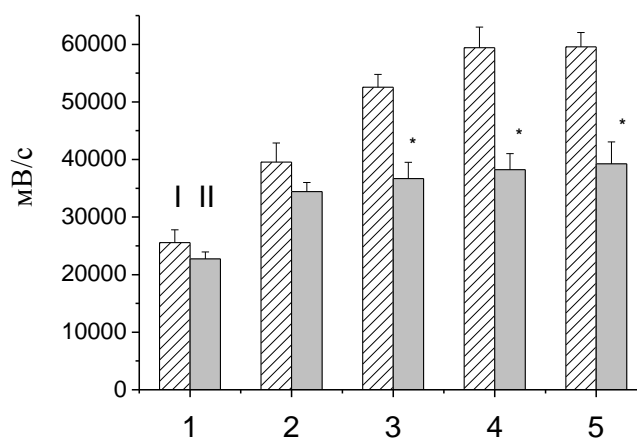


Рис. 4.40 Зміна загальної світлосуми хемілюмінесценції (Σ_5) плазми крові собак при ішемії-реперфузії міокарда в дослідях *in vivo* у контролі (I) та при активації SUR-рецепторів (II); 1– вихідне значення за умов нормоксії, 2 – 90-та хвилина ішемії; 3-5 – 60-та, 120-та і 180-та хвилини реперфузії, * $P<0,05$ порівняно з контрольними значеннями (ішемія-реперфузія без активації SUR)

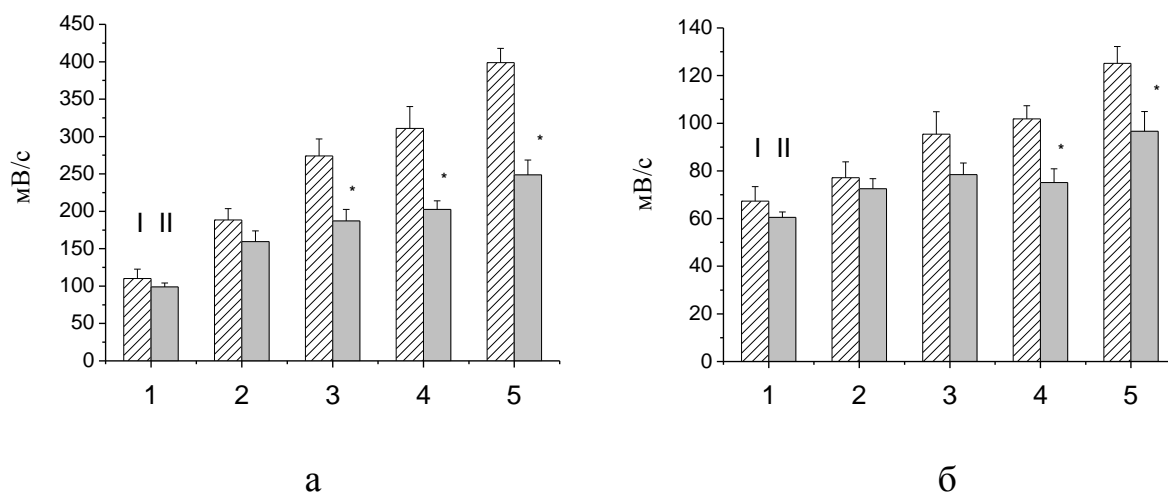


Рис. 4.41 Зміна інтенсивності швидкого (I_0) спалаху (а) та швидкості затухання (I_5) хемілюмінесценції (б) плазми крові собак при ішемії-реперфузії міокарда в дослідках *in vivo* у контролі (I) та при активації SUR-рецепторів (II); 1– вихідне значення за умов нормоксії, 2 – 90-та хвилина ішемії; 3-5 – 60-та, 120-та і 180-та хвилини реперфузії, * $P < 0,05$ порівняно з контрольними значеннями (ішемія-реперфузія без активації SUR)

Отримані дані свідчать про зростання інтенсивності перекисних процесів, вірогідно в наслідок порушення балансу між утворенням та інактивацією перекисних ліпідів, що може призводити до їх надлишкового нагромадження.

Активація SUR-рецепторів K_{ATP} -каналів призводила до зменшення всіх кінетичних показників індукованої ХЛ у плазмі крові собак при ішемії та наступній реперфузії міокарда (див. табл. 4.28). Зокрема, у період реперфузії у контролі приріст Σ_5 від вихідного рівня становив 105,66, 132,48 та 133,04 % на 60-й, 120-й і 180-й хвилині відповідно. Водночас в експериментах зі стимуляцією SUR-рецепторів він був значно меншим – 61,41, 68,12 та 72,55 % відповідно. Тобто активація вищезгаданих мембранних структур призводить до зменшення Σ_5 на 60-й хвилині реперфузії на 41,9 % ($P < 0,05$), а на 120-й і 180-й хвилині відповідно на 48,6 ($P < 0,05$) та 45,5 % ($P < 0,05$) порівняно з контролем (див. рис. 4.40). Показник I_5 при активації SUR на 60-й хвилині реперфузії зменшувався на 29,2 %, а на 120-й і 180-й хвилині відповідно вже на 53,0 ($P < 0,05$) та 30,6 %

($P < 0,05$) порівняно з контролем, див. рис. 4.41, б. Відмічалися і зміни амплітуди швидкого спалаху (I_0), вже на 90-й хвилині ішемії цей показник був на 13,5 % нижчим ніж у контролі (при ішемії-реперфузії). Під час реперфузії ішемізованого міокарда показник I_0 на 60-й хвилині знижувався на 39,8% ($P < 0,05$), а на 120-й і 180-й хвилині реперфузії – відповідно на 42,6 ($P < 0,05$) та 41,8 % ($P < 0,05$), див. рис. 4.41, а.

Таким чином, стимуляція SUR-рецепторів під час реперфузії ішемізованого міокарда знижує показник I_0 у середньому на 41,4, показник Σ_5 у середньому на 45,3 та показник I_5 у середньому на 37,6 % в порівнянні контрольних значень (табл. 4.29), призводить до пригнічення інтенсивності вільнорадикальних реакцій та зменшує окиснювальний стрес.

Таблиця 4.29

Зменшення показників ХЛ у плазмі крові собак при активації SUR-рецепторів флокаліном-Л відносно зі значеннями при ішемії-реперфузії міокарда.

Умови досліджу	Час у хвилинах	I_0	Σ_5	I_5
Реперфузія	60	39,83 %	41,88 %	29,24%
	120	42,59 %	48,58 %	53,03%
	180	41,83 %	45,47 %	30,58 %

Примітки:

1. I_0 – амплітуда швидкого спалаху,
2. Σ_5 – загальна світло сума за 5 хв,
3. I_5 – кінцеве значення інтенсивності випромінення,
4. * $P < 0,05$ порівняно зі значеннями при ішемії-реперфузії без активації SUR-рецепторів калієвих каналів.

Підтвердженням антиоксидантної дії активації цих рецепторів може бути зменшений у плазмі крові порівняно з контрольними експериментами (ішемія-реперфузія), як і в різних зонах серця собак вміст продуктів перекисного

окиснення ліпідів ДК (табл. 4.27, рис. 4.42). В контролі вміст ДК у плазмі крові порівняно з вихідним рівнем (нормоксія) практично протягом всієї ішемії-реперфузії був збільшений у 5,5 разів, з максимальним підвищенням у першу годину реперфузії у 7,4 раза. Водночас активація SUR-рецепторів попереджувала утворення ДК – протягом ішемії у 1,3 та реперфузії у 1,8 раза, з ще більшим зниженням у кінці реперфузії – у 2,4 раза (рис. 4.42) [81].

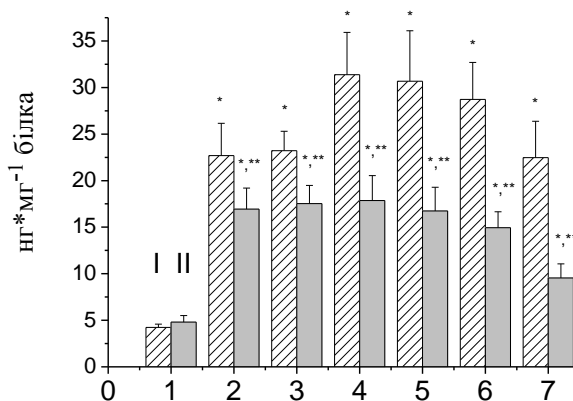


Рис. 4.42 Зміна вмісту ДК у плазмі крові собак при ішемії-реперфузії міокарда в дослідках *in vivo* у контролі (I) та при активації SUR-рецепторів (II); 1– вихідне значення за умов нормоксії, 2-3 – 60-та, 90-та хвилини ішемії; 4-7 – 10-та, 60-та, 120-та і 180-та хвилини реперфузії, * $P<0,05$ порівняно з вихідним рівнем (нормоксією), ** $P<0,05$ порівняно з контрольними значеннями (ішемія-реперфузія без активації SUR)

Активація SUR-рецепторів чинить виражену антиоксидантну дію інгібуючи ПОЛ шляхом зменшення пулів супероксид-аніону (O_2^\cdot) інгібуючи такі його генератори як ксантиноксидаза (про що свідчить зниження рівнів сечової кислоти), ліпоксигеназа (зниження рівнів LTC_4) та циклооксигеназа (зниження рівнів TxB_2). Як вже згадувалося, сечова кислота утворюється в ксантиноксидазній реакції, коли одночасно з нею генерується супероксид і вона є тестом на активність цього процесу. Рівень сечової кислоти в плазмі крові на протязі ішемії-реперфузії постійно зростає, з піком на другу годину реперфузії – у 9,6 та 8 разів на 90-ту і 120-ту хвилини відповідно від вихідного рівня.

Стимуляція SUR значно зменшувала її утворення (а, отже, і супероксиду) – з максимумом на цьому ж відрізку реперфузії (див. табл. 4.26 та рис. 4.43) [491].

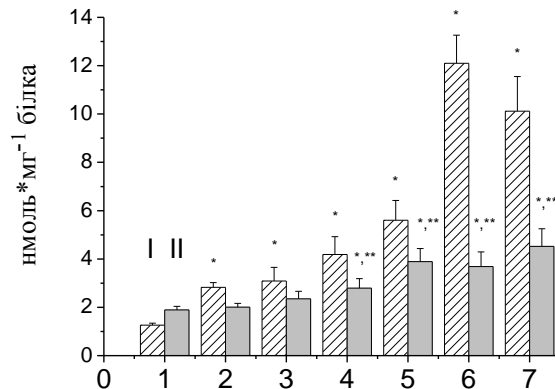


Рис. 4.43 Зміна вмісту сечової кислоти в плазмі крові собак при ішемії-реперфузії міокарда в дослідях *in vivo* у контролі (I) та при активації SUR-рецепторів (II); 1–вихідне значення за умов нормоксії, 2-3 – 60-та, 90-та хвилини ішемії; 4-7 – 10-та, 60-та, 120-та і 180-та хвилини реперфузії, * $P < 0,05$ порівняно з вихідним рівнем (нормоксією), ** $P < 0,05$ порівняно з контрольними значеннями (ішемія-реперфузія без активації SUR)

Це є важливим з огляду на те, що за ішемії-реперфузії одночасно збільшується синтез супероксиду і синтез NO ізоферментом iNOS (рис. 4.40, а), що є передумовою для утворення пероксинітриту. Підтвердженням зменшення продукції останнього при активації SUR за ішемії-реперфузії може бути деяке зниження рівнів нітрат-аніону, пули якого утворюються при розпаді пероксинітриту. В контрольних експериментах відбувалося значне підвищення (у 2,6 раза) вмісту нітрат-аніона в плазмі крові в останню годину реперфузії. Водночас флокалін зменшував їх вміст у 3,2 раза (табл. 4.23 та рис. 4.44).

За ішемії-реперфузії в плазмі крові значно зростає рівень LTC_4 , з найвищими значеннями при ішемії у 5,6 та 6,4 раза на 60-ту і 90-ту хвилину, та у 3,6 та 3,7 раза на 10-ту і 90-ту хвилину реперфузії відповідно. Аналогічно збільшується і рівень TxB_2 – з максимумом у три та 3,5 раза на 60-ту і 90-ту хвилину ішемії, та у 3,1 та 4,7 раза у той же час реперфузії відповідно (рис. 4.45, табл. 4.30). Це може

свідчити про збільшення активності ферментів ліпоксигенази, циклооксигенази та, відповідно, утворення супероксид-аніону.

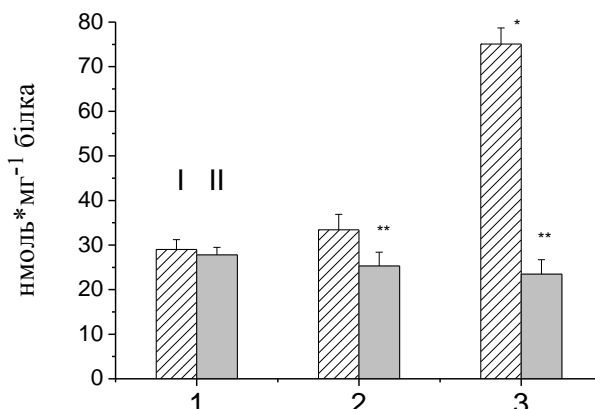


Рис. 4.44 Зміна вмісту продукту деградації пероксинітриту – нітрат-аніона в плазмі крові собак при ішемії-реперфузії міокарда в дослідях *in vivo* у контролі (I) та при активації SUR-рецепторів (II); 1– вихідне значення за умов нормоксії, 2-3 – 120-та і 180-та хвилини реперфузії, * $P < 0,05$ порівняно з вихідним рівнем (нормоксією), ** $P < 0,05$ порівняно з контрольними значеннями (ішемія-реперфузія без активації SUR)

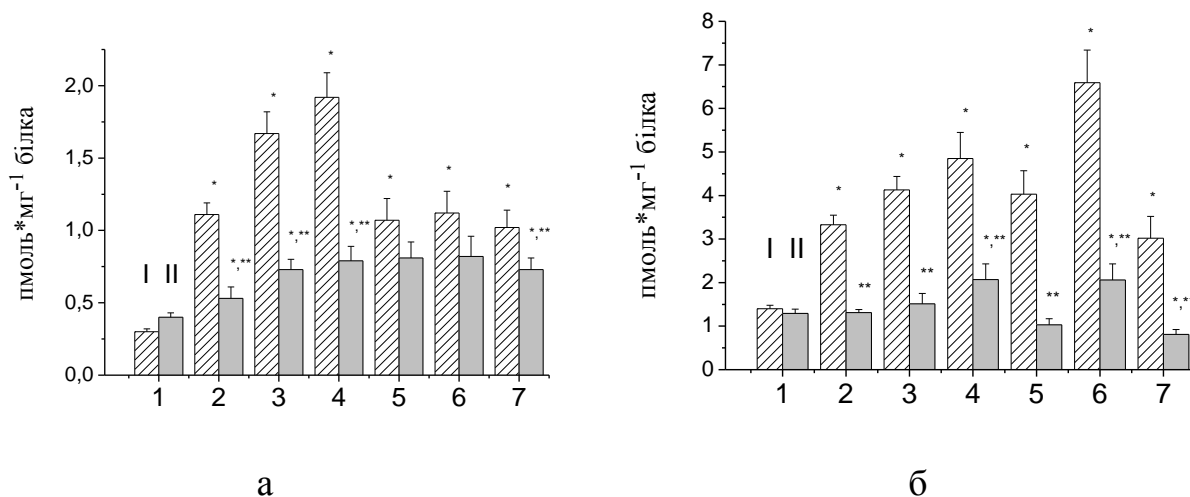


Рис. 4.45 Зміна вмісту LTC₄ (а) та TxB₂ (б) в плазмі крові собак при ішемії-реперфузії міокарда в дослідях *in vivo* у контролі (I) та при активації SUR-рецепторів (II); 1– вихідне значення за умов нормоксії, 2-4 – 10-та, 60-та, 90-та хвилини ішемії; 5-7 – 10-та, 90-та і 180-та хвилини реперфузії, * $P < 0,05$ порівняно з вихідним рівнем (нормоксією), ** $P < 0,05$ порівняно з контрольними значеннями (ішемія-реперфузія без активації SUR)

Таблиця 4.30

Вплив активації SUR-рецепторів на зміни продуктів ферментативного окиснення ліпідів у плазмі крові собак за ішемії-реперфузії міокарда, ($M \pm m$)

Умови досліджу	Час (хв)	LTC ₄ , пмоль/мг білка		TxV ₂ , пмоль/мг білка	
		I-P	Активация SUR + I-P	I-P	Активация SUR + I-P
Вихідне значення	0	0,30 ± 0,02	0,40 ± 0,03	1,40 ± 0,08	1,29 ± 0,10
Активация SUR	30		0,38 ± 0,05		1,12 ± 0,09
	60		0,33 ± 0,05		0,80 ± 0,12
Ішемія	10	1,11 ± 0,08*	0,53 ± 0,08	3,33 ± 0,22*	1,31 ± 0,07
	60	1,67 ± 0,15*	0,73 ± 0,07*	4,13 ± 0,31*	1,51 ± 0,24
	90	1,92 ± 0,17*	0,79 ± 0,10*/**	4,85 ± 0,60*	2,07 ± 0,36*/**
Реперфузія	10	1,07 ± 0,9	0,81 ± 0,11*/**	4,03 ± 0,54*	1,03 ± 0,14
	60	0,95 ± 0,16*	0,73 ± 0,10*	4,39 ± 0,62*	1,77 ± 0,26
	90	1,12 ± 0,15*	0,82 ± 0,14*/**	6,59 ± 0,75*	2,06 ± 0,37*/**
	120	0,84 ± 0,12*	0,74 ± 0,13*/**	3,35 ± 0,43*	1,04 ± 0,14
	180	1,02 ± 0,12*	0,73 ± 0,08*/**	3,02 ± 0,50*	0,81 ± 0,11*

Вперше показано, що передішемична активация SUR-рецепторів значно зменшувала утворення як LTC₄, так і TxV₂. Зокрема, вміст LTC₄ протягом ішемії був зменшеним більш ніж вдвічі з максимумом у 2,4 раза на 90-й хвилині. Найбільше зниження його вмісту в плазмі крові під час реперфузії – у 1,4 раза відбувалося на протязі другої години (див. рис. 4.45, а). Подібним чином під час ішемії змінювався і вміст пулів TxV₂ – зменшення більш ніж у 2,3 раза, максимально на 60-й хвилині у 2,7 раза [81]. Протягом реперфузії вміст його пулів був зменшеним більш ніж втричі з найбільшими показниками у 3,9 та 3,7 раза на 10-й і 180-й хвилині відповідно (див. рис. 4.45, б). Це може свідчити про зниження активності вище згаданих ферментів при стимуляції вищезгаданих рецепторів за ішемії-реперфузії міокарда та, як наслідок, зменшення утворення супероксиду. Добре відомо про патогенну роль в умовах ішемії міокарда цих ейкозаноїдів. Вони мають коронарострикторну та аритмогенну дію, крім того, лейкотрієни є одним з найбільш потужних хемоатрактантів для нейтрофілів [27,

220, 406, 508]. Тобто, при гальмуванні продукції цих ейкозаноїдів слід чекати усунення констрикторних реакцій судин серця, зменшення порушень ритму та прооксидантних явищ, пов'язаних з акумуляцією нейтрофілів в вогнищі інфаркту. Повністю підтверджує це передбачення отримане нами зменшення вмісту пероксиду водню, ДК та МДА.

Підвищення утворення вільних радикалів та накопичення перекисних продуктів, у свою чергу, може призводити до пригнічення активності антиоксидантних ферментів [251]. Ішемія та наступна реперфузія супроводжується одночасним зниженням антиоксидантного потенціалу, а саме пригніченням активності ключових ферментів АОС організму каталази (протягом реперфузії) та СОД (кінець ішемії та початок реперфузії), (див. табл. 4.31).

Таблиця 4.31

Вплив стимуляції SUR-рецепторів флокаліном-3 (1,5 мг/кг, n=6) на активність ферментів антиоксидантного захисту в плазмі крові анестезованих собак за ішемії-реперфузії міокарда, ($M \pm m$)

Умови досліджу	Час (хв)	Супероксиддисмутаза, ум. од.		Каталаза, ммоль/хв. мг білка	
		I-P	Активация SUR + I-P	I-P	Активация SUR + I-P
Вихідне значення	0	1,68 ± 0,37	1,69±0,32	79,22 ± 2,34	79,31 ± 3,3
Активация SUR	30		1,68±0,27		79,9 ± 7,3
	60		1,70±0,42		82,1 ± 10,1
Ішемія	10	1,69 ± 0,37	1,97 ± 0,28	70,59 ± 4,12	87,2 ± 9,2
	90	1,28 ± 0,23	2,10 ± 0,26**	72,95 ± 6,63	98,5 ± 11,8
Реперфузія	10	1,37±0,33	2,60 ± 0,188*/**	69,27±5,21	121,5 ± 12,8
	60	1,79 ± 0,34	2,93 ± 0,15*/**	67,81 ± 7,64	125,75 ± 15,2
	120	2,29 ± 0,25	2,79 ± 0,17*/**	63,67 ± 5,12	112,5 ± 10,4
	180	2,42 ± 0,31	2,84 ± 0,18*	62,25 ± 2,27	97,22 ± 11,6

Водночас активация SUR-рецептору K_{ATP} -каналів не те що попереджує зменшення їх активності, а навіть може підвищувати її. Протягом як ішемії, так і

реперфузії активність цих ферментів була вищою порівняно з вихідним рівнем (нормоксія). Максимальні значення цього зростання були зафіксовані на 90-й хвилині ішемії та 60-й хвилині реперфузії для активності обох ферментів. Зокрема, для СОД це підвищення складало 24,3 та 73,4%, для каталази – 24,2 та 58,6% за ішемії та реперфузії відповідно (див. табл. 4.31). Підвищення активності СОД в порівнянні контрольних експериментів (ішемія-реперфузія без активації SUR) за ішемії сягає максимуму на 90-й хвилині (у 1,64 раза), за реперфузії – на 10-й хвилині у 1,9 раза (рис. 4.46) [81, 491].

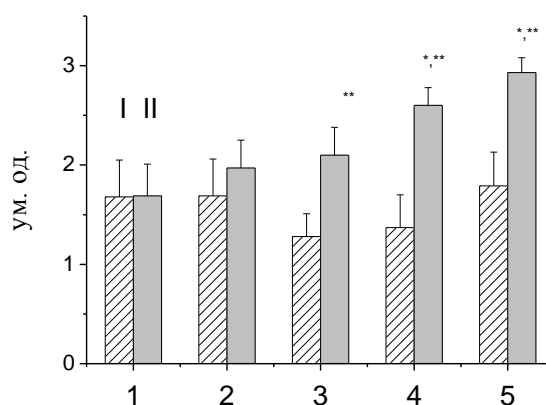


Рис. 4.46 Зміна активності ферменту супероксиддисмутази в плазмі крові собак при ішемії-реперфузії міокарда в дослідях *in vivo* у контролі (I) та при активації SUR-рецепторів (II) флокаліном-3 (1,5 мг/кг); 1– вихідне значення за умов нормоксії, 2-3 – 10-та і 90-та хвилини ішемії; 4-5 – 10-та і 60-та хвилини реперфузії, * $P < 0,05$ порівняно з вихідним рівнем (нормоксією), ** $P < 0,05$

Збільшення активності ферменту каталази при активації SUR-рецепторів в порівнянні до експериментів за ішемії сягає максимуму також в її закінченні – у 1,35 раза, за реперфузії – на 10-й, 60-й і 120-й хвилині – перевершує її у 1,75, 1,85 та 1,77 раза відповідно (рис. 4.47).

Отже, отримані результати свідчать, що активація SUR-рецептору K_{ATP} -каналів за ішемії-реперфузії міокарда підвищує стійкість тканини до перекисних процесів, значною мірою попереджає ішемічно-реперфузійні пошкодження за рахунок пригнічення вільнорадикальних процесів та посилення ферментної ланки антиоксидантного захисту.

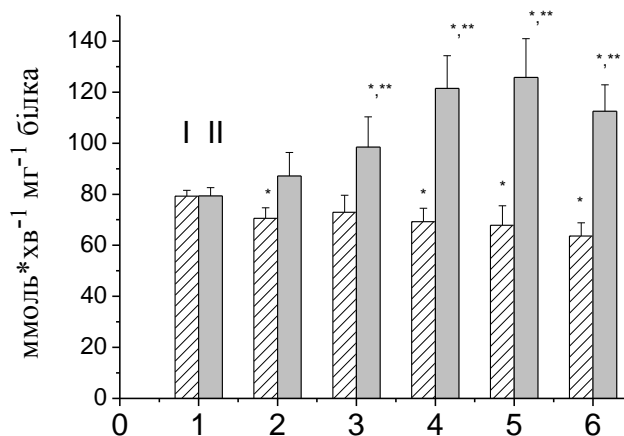


Рис. 4.47 Зміна активності ферменту каталази в плазмі крові собак при ішемії-реперфузії міокарда в дослідях *in vivo* у контролі (I) та при активації SUR-рецепторів (II) флокаліном-3 (1,5 мг/кг); 1– вихідне значення за умов нормоксії, 2-3 – 10-та і 90-та хвилини ішемії, 4-6 – 10-та, 60-та і 120-та хвилини реперфузії, * $P < 0,05$ порівняно з вихідним рівнем (нормоксією), ** $P < 0,05$ порівняно з контрольними значеннями (ішемія-реперфузія без активації SUR)

Аналогічно до вимірювань у міокарді, у плазмі крові при ішемії-реперфузії також збільшувався вміст пулів вільної арахідонової кислоти з максимальними значеннями на 90-ту хвилину ішемії та 10-ту хвилину реперфузії – у 5,9 та 6,4 раза відповідно (рис. 4.48, табл. 4.32). Вперше показано, що активації SUR запобігає такому підвищенню: протягом ішемії її вміст був зменшений майже втричі, під час реперфузії вдвічі [81]. Зниження вмісту вільної арахідонової кислоти може свідчити про гальмування деградації фосфоліпідів клітинних мембран, а оскільки наслідком активації вищезазначених рецепторів K_{ATP} -каналів є зменшення входу кальцію в клітину то вірогідним є пригнічення активності Ca^{2+} -залежних ферментів, зокрема і Ca^{2+} -залежної фосфоліпази A_2 . Ці результати можуть свідчити про мембраностабілізуючу дію активації SUR та добре співвідносяться з електронноморфологічними даними про корекцію порушень проникності мембран кардіоміоцитів та збереження структури внутрішньоклітинних органел, що були отримані нами при ішемії-реперфузії ізолюваного серця морської свинки та представлені в підрозділі 4.3.

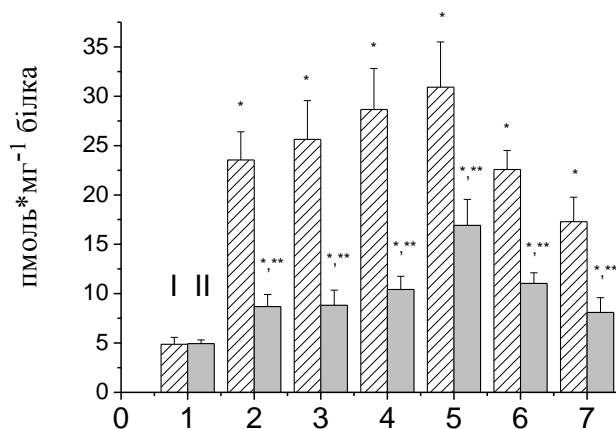


Рис. 4.48 Зміна вмісту вільної арахідонової кислоти в плазмі крові собак при ішемії-реперфузії міокарда в дослідях *in vivo* у контролі (I) та при активації SUR-рецепторів (II); 1– вихідне значення за умов нормоксії, 2-4 – 10-та, 60-та і 90-та хвилини ішемії; 5-7 – 10-та, 90-та і 180-та хвилини реперфузії, * $P < 0,05$ порівняно з вихідним рівнем (нормоксією), ** $P < 0,05$ порівняно з контрольними значеннями (ішемія-реперфузія без активації SUR)

Таблиця 4.32

Вплив стимуляції SUR-рецепторів флокаліном-ЛІ на зміни вмісту вільної арахідонової кислоти в плазмі крові собак за ішемії-реперфузії міокарда, ($M \pm m$)

Умови досліджу	Час у хвилинах	Арахідонова кислота, пмоль/мг білка	
		I-P	Активация SUR + I-P
Вихідне значення	0	$4,87 \pm 0,71$	$4,93 \pm 0,39$
Активация SUR	30		$4,64 \pm 0,54$
	60		$3,51 \pm 0,60$
Ішемія	10	$23,54 \pm 2,85^*$	$8,68 \pm 1,24^{**}$
	60	$25,62 \pm 3,94^*$	$8,83 \pm 1,52^{**}$
	90	$28,65 \pm 4,15^*$	$10,42 \pm 1,34^{**}$
Реперфузія	10	$30,91 \pm 4,6^*$	$16,91 \pm 2,65^{**}$
	60	$27,55 \pm 3,61^*$	$14,03 \pm 1,92^{**}$
	90	$22,57 \pm 1,95^*$	$11,03 \pm 1,09^{**}$
	120	$18,82 \pm 3,10^*$	$9,75 \pm 1,48^{**}$
	180	$17,28 \pm 2,48^*$	$8,09 \pm 1,5^{**}$

Подібно до міокарда, в плазмі крові собак за ішемії-реперфузії зростає рівень продуктів розпаду гемі – білірубін та заліза (табл. 4.33, рис. 4.49). Зокрема на кінець періоду ішемії їх рівні зростали у 1,4 та 1,6 раза відповідно. На третю годину реперфузії у 16 (120-та хвилина) та 2,1 (180-та хвилина) раза відповідно. Водночас як і в міокарді стимуляції SUR посилювала цей процес – ці показники у той же час ішемії були вищими вже у 1,7 та три рази, при реперфузії у 25 разів та втричі відповідно (рис. 4.49, табл. 4.33). Як вже згадувалося, це збільшення продуктів деградації гемі може мати захисний характер, оскільки відомо про нейро- і кардіопротекторну дію білірубін і CO [26, 171, 483].

Таблиця 4.33

Вплив стимуляції SUR-рецепторів флокаліном-Л на зміни пулів продуктів гемоксигеназної реакції в плазмі крові собак за ішемії-реперфузії міокарда, ($M \pm m$)

Умови досліджу	Час (хв)	Білірубін, пмоль/мг білка		Fe ²⁺ , пмоль/мг білка	
		I-P	Активация SUR + I-P	I-P	Активация SUR + I-P
Вихідне значення	0	5,70 ± 0,60	5,42 ± 0,73	54,0 ± 4,4	55,2 ± 7,1
Активация SUR	30		5,41 ± 0,82		83,9 ± 9,8
	60		7,49 ± 0,95		104,9 ± 11,5
Ішемія	10	6,19 ± 0,94	8,42 ± 1,22	72,5 ± 11,6	105,3 ± 16,2*
	60	7,45 ± 0,83	8,89 ± 1,36	77,4 ± 10,8	145,5 ± 16,8*/**
	90	8,11 ± 1,10	9,21 ± 1,72	85,7 ± 12,4	161,8 ± 19,7*/**
Реперфузія	10	8,25 ± 1,45	11,18 ± 1,56*	89,7 ± 9,7	83,3 ± 12,5
	60	8,62 ± 1,15	16,87 ± 1,12*/**	98,7 ± 8,5	102,7 ± 9,9*
	90	10,53 ± 1,33*	21,94 ± 1,95*/**	102,9 ± 11,4*	103,5 ± 10,0*
	120	10,17 ± 0,89*	20,59 ± 3,14*/**	112,1 ± 13,5*	136,5 ± 16,1*
	180	90,0 ± 7,6	132,9 ± 19,8*	63,6 ± 9,8	159,5 ± 18,0*/**

Вперше показано, що стимуляція SUR при ішемії-реперфузії міокарда запобігає значному підвищенню вмісту в плазмі крові собак сумарних продуктів деградації пуринових нуклеотидів (АТФ і ГТФ) – неорганічного фосфату та суми

ксантину, гіпоксантину і інозину (сполук, вміст яких ми фіксували по зміні екстинкції при 254 нм). Результати експериментів представлено на рисунках 4.50 та 4.51, і в таблицях 4.34, 4.35.

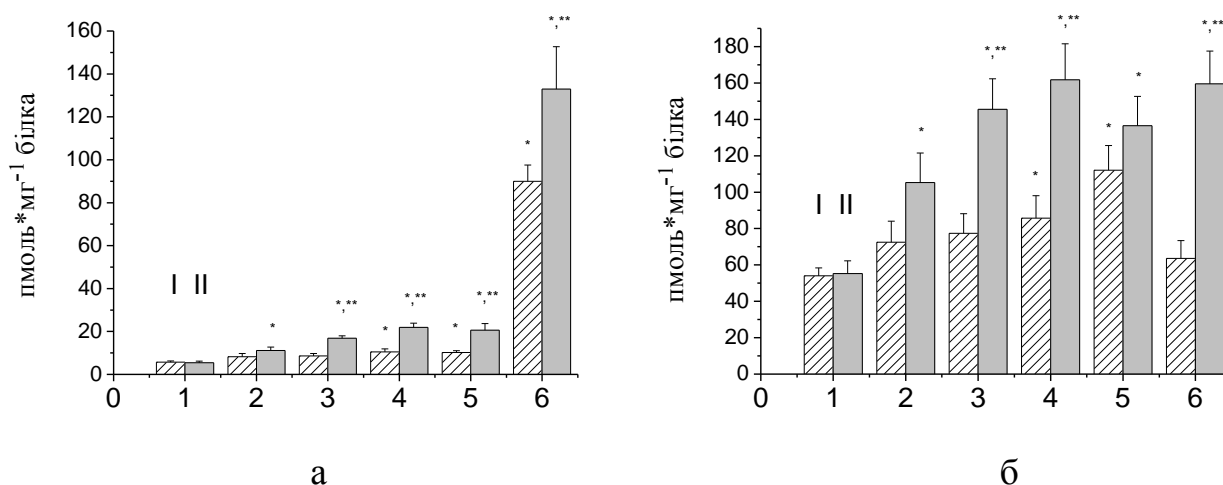


Рис. 4.49 Зміна вмісту продуктів деградації гемі білірубіну (а) та заліза (б) в плазмі крові собак при ішемії-реперфузії міокарда в досліді *in vivo* у контролі (I) та при активації SUR-рецепторів (II); 1 – вихідне значення за умов нормоксії, для білірубіну: 2-6 – 10-та, 60-та, 90-та, 120-та і 180-та хвилини реперфузії; для заліза: 2-4 – 10-та, 60-та, 90-та хвилини ішемії, 120-та і 180-та хвилини реперфузії, * $P < 0,05$ порівняно з вихідним рівнем (нормоксією), ** $P < 0,05$ порівняно з контрольними значеннями (ішемія-реперфузія без активації SUR)

Максимальне збільшення ΔD у плазмі крові контрольних тварин у 4,6 та 14 разів відбувалось на 90-й хвилині ішемії та реперфузії відповідно (див. табл. 4.34 та рис. 4.50, а). Водночас активація SUR флокаліном-Л значно пригнічувала це зростання, порівняно з контролем воно зменшувалося у 2,8 раза на 90-й хвилині ішемії, та у 5,7 та 6,2 раза на 120-й і 180-й хвилинах реперфузії відповідно (див. рис. 4.50, а). Аналогічні зміни відбувалися і з пулами неорганічного фосфату, максимальне зростання яких було на 90-тих хвилинах ішемії (у 6,4 раза) та реперфузії (у 11,6 раза). Стимуляція SUR зменшувала їх зростання з максимальними ефектами у 5 разів на 90-й хвилині ішемії, та у 4,7 раза на 10-й хвилині реперфузії (рис. 4.50, б). Подібні протекторні ефекти були при активації SUR флокаліном-Зд (табл. 4.35 і рис. 4.51) [28, 73, 81, 90, 93, 491].

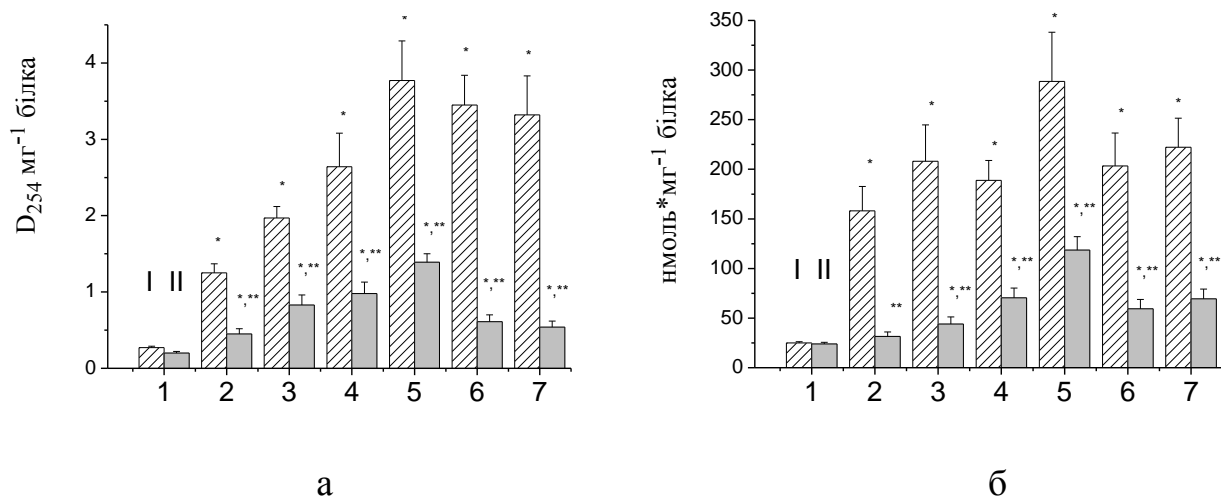


Рис. 4.50 Зміна вмісту сумарних продуктів деградації пуринових нуклеотидів (АТФ+ГТФ) – інозину, гіпоксантину, ксантину (а) і неорганічного фосфату (б) в плазмі крові собак при ішемії-реперфузії міокарда в досліді *in vivo* у контролі (I) та при активації SUR-рецепторів (II) флокаліном-Л; 1– вихідне значення за умов нормоксії, 2 – 90-та хвилина ішемії, 3-7 – 10-та, 60-та, 90-та, 120-та і 180-та хвилини реперфузії, * $P < 0,05$ порівняно з вихідним рівнем (нормоксією), ** $P < 0,05$ порівняно з контрольними значеннями (ішемія-реперфузія без активації SUR)

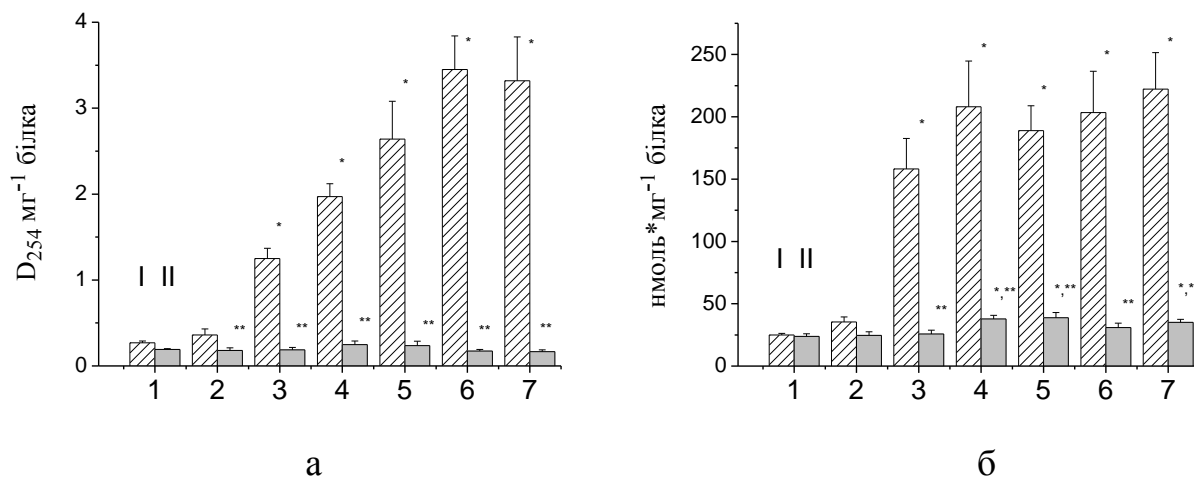


Рис. 4.51 Зміна вмісту сумарних продуктів деградації пуринових нуклеотидів (АТФ+ГТФ) – інозину, гіпоксантину, ксантину (а) і неорганічного фосфату (б) в плазмі крові собак при ішемії-реперфузії міокарда у контролі (I) та при активації SUR-рецепторів (II) флокаліном-Зд; 1– вихідне значення за умов нормоксії, 2-3 – 10-та і 90-та хвилина ішемії, 4-7 – 10-та, 60-та, 120-та і 180-та хвилини реперфузії, * $P < 0,05$ порівняно з вихідним рівнем (нормоксією), ** $P < 0,05$ порівняно з контрольними значеннями (ішемія-реперфузія без активації SUR)

Таблиця 4.34

Вплив стимуляції SUR флокаліном-Л на зміни продуктів деградації пуринових нуклеотидів (АТФ і ГТФ) в плазмі крові за ішемії-реперфузії міокарда, ($M \pm m$)

Умови досліджу	Час (хв)	E ₂₅₄ , ΔЕ/мг білка		Рi, нмоль/мг білка	
		I-P	Активация SUR + I-P	I-P	Активация SUR + I-P
Вихідне значення	0	0,27 ± 0,02	0,20 ± 0,02	24,9 ± 1,3	23,9 ± 1,6
Активация SUR	30		0,21 ± 0,02		23,5 ± 2,8
	60		0,22 ± 0,03		30,8 ± 4,2
Ішемія	10	0,36 ± 0,07	0,24 ± 0,03	35,4 ± 4,1	26,6 ± 3,9
	60	0,43 ± 0,06*	0,32 ± 0,05*	22,6 ± 14,5	30,2 ± 3,6**
	90	1,25 ± 0,12*	0,45 ± 0,07*/**	158,2 ± 24,5*	31,5 ± 4,5**
Реперфузія	10	1,97 ± 0,15*	0,83 ± 0,13*/**	208,0 ± 36,7*	44,0 ± 7,1*/**
	60	2,64 ± 0,44*	0,98 ± 0,15*/**	188,9 ± 19,9*	70,5 ± 9,8*/**
	90	3,77 ± 0,52*	1,39 ± 0,11*/**	288,5 ± 49,7*	118,5 ± 13,6*/**
	120	3,45 ± 0,39*	0,61 ± 0,09*/**	203,4 ± 33,2*	59,4 ± 9,5*/**
	180	3,32 ± 0,51*	0,54 ± 0,08*/**	222,23 ± 29,3*	69,5 ± 9,7*/**

Попередження значного підвищення вмісту неорганічного фосфату при стимуляції SUR-рецепторів за ішемії-реперфузії свідчить, з одного боку, про попередження повної деградації пуринових нуклеотидів, що покращує умови для їх ресинтезу та є причиною зменшення продукції супероксид-аніону при деградації гіпоксантину і ксантину ферментом ксантинооксидазою, з іншого – про можливе обмеження процесу апоптозу кардіоміоцитів, що може бути ще одним важливим кардіопротекторним механізмом.

Таким чином, дослідження змін біохімічних показників в плазмі артеріальної крові та гомогенатах різних зон міокарда при ішемії-реперфузії та активації SUR-рецепторів калієвих каналів дозволило визначити ще декілька можливих механізмів антиішемічного захисту. Вони полягають в попередженні значного зростання надлишкового токсичного (за рахунок утворення пероксинітриту) індукцйбельного (за дії ферменту iNOS) і реутилізаційного (за дії

ферменту нітратредуктази) та, навпаки, підвищення протективного конститутивного (за дії ферменту cNOS) синтезу оксиду азоту та пригнічення деградації L-аргініну аргіназою. Свідченням потужної антиішемічної дії цих каналів є інгібування реутилізаційного синтезу оксиду азоту, який має місце винятково в умовах ішемії, та підвищення вмісту нітрит-аніона, який утворюється спонтанно при окисненні оксиду азоту лише в окисгенованих розчинах.

Таблиця 4.35

Вплив стимуляції SUR флокаліном-3д на зміни продуктів деградації пуринових нуклеотидів (АТФ і ГТФ) в плазмі крові за ішемії-реперфузії міокарда, ($M \pm m$)

Умови досліджу	Час (хв)	E ₂₅₄ , ΔЕ/мг білка		Рi, нмоль/мг білка	
		I-P	Активация SUR + I-P	I-P	Активация SUR + I-P
Вихідне значення	0	0,27 ± 0,02	0,192 ± 0,01	24,9 ± 1,3	23,89 ± 1,96
Активация SUR	30		0,193 ± 0,026		27,36 ± 2,12
	60		0,194 ± 0,028		25,54 ± 2,75
Ішемія	10	0,36 ± 0,07	0,181 ± 0,030**	35,4 ± 4,1	24,55 ± 3,02
	90	1,25 ± 0,12*	0,187 ± 0,029**	158,2 ± 24,5*	25,76 ± 3,12**
Реперфузія	10	1,97 ± 0,15*	0,249 ± 0,042**	208,0 ± 36,7*	37,76 ± 2,88*/**
	60	2,64 ± 0,44*	0,237 ± 0,050**	188,9 ± 19,9*	38,85 ± 4,11*/**
	120	3,45 ± 0,39*	0,174 ± 0,019**	203,4 ± 33,2*	30,85 ± 3,65**
	180	3,32 ± 0,51*	0,167 ± 0,021**	222,23 ± 29,3*	35,06 ± 2,47*/**

Ще одним захисним механізмом є пригнічення вільнорадикальних реакцій та їх антиокиснювальні властивості, значне обмеження генерації активних форм кисню (оксидативного стресу) та азоту (нітрозативного стресу), запобігання зниженню, та навпаки, підвищення активності ферментів АОС: каталази та супероксиддисмутази. Зменшення вмісту в крові вільної арахідонової кислоти (може свідчити про гальмування деградації фосфоліпідів клітинних мембран фосфоліпазою А₂, що вказує на мембраностабілізуючу дію активації цих каналів) та, патогенних в умовах ішемії міокарда її похідних – LTC₄ та TxV₂ – які мають

потужну коронароконстрикторну, аритмогенну та прооксидантну дію. Проявами кардіопротекторного впливу також можна вважати пригнічення деградації АТФ, стимуляцію гемоксигеназної реакції, зменшення утворення сечової кислоти та сечовини (які у високих концентраціях є кардіотоксичними, а у низьких – антиоксидантними) та підвищення рівнів сфінгозину, який через активацію протеїнкінази PKB/Akt може посилювати активність протекторного за ішемії ферменту cNOS [28, 73, 81, 86, 90, 93, 491].

4.2.3. Зменшення розміру зони інфаркту міокарда.

Одним із основних показників кардіопротекторної дії стимуляції SUR-рецепторів є зменшення розміру некротичної ділянки серця (зони інфаркту) за моделювання експериментальної ішемії-реперфузії міокарда. Розрахунок величин ішемічного ураження міокарда показує, що після гострої ішемії-реперфузії у собак (n=7) площа зони некрозу по відношенню до площі лівого шлуночка становить $11,05 \pm 0,72$ % ($P < 0,05$), а відношення площі зони некрозу до площі зони ризику – $27,25 \pm 1,8$ % ($P < 0,05$), (табл. 4.36). Відношення зони ризику до площі лівого шлуночка становить $40,9 \pm 4,1$ % [36, 88, 493].

Таблиця 4.36

Розміри зон уражень серця після ішемії-реперфузії міокарда в контрольній групі (ішемія-реперфузія, n=7) та при помірній стимуляції SUR-рецепторів (n=5) субстанцією флокаліну (0,1 мг/кг), ($M \pm m$).

Група	Зона ризику/ площа лівого шлуночка (%)	Зона некрозу/ зона ризику (%)	Зона некрозу/ площа лівого шлуночка (%)
Ішемія-реперфузія	$40,9 \pm 4,1$	$27,25 \pm 1,8$	$11,05 \pm 0,72$
Активация SUR і ішемія-реперфузія	$37,33 \pm 4,9$	$18,65 \pm 2,47$ *	$6,91 \pm 0,74$ *

Примітка. * $P < 0,05$ – відносно до значень при ішемії-реперфузії без активації SUR.

Стимуляції SUR-рецепторів призводить до зміни відношень площ зон міокарда лівого шлуночка ($n=5$) за експериментальної ішемії-реперфузії міокарда (див. табл. 4.36). А саме, вірогідно зменшуються відношення площі зони некрозу до площі зони ризику та до площі лівого шлуночка, та складають у середньому $18,65 \pm 2,47$ ($P<0,05$) і $6,91\% \pm 0,74\%$ ($P<0,001$) відповідно, в порівнянні 27,25 та 11,05% у контрольній групі. Відношення площі зони ризику до площі лівого шлуночка у контрольній та дослідній групах вірогідно не відрізнялося і становило $40,9 \pm 4,1$ ($P<0,05$) та $37,33\% \pm 4,9\%$ ($P<0,05$) відповідно (табл. 4.36). Таким чином, вперше показано, що при експериментальній гострій ішемії-реперфузії міокарда помірна активація SUR субстанцією флокаліну (0,1 мг/кг) зменшує розмір інфаркту міокарда порівняно з контролем на $37,47\% \pm 2,43\%$ (рис. 4.52).

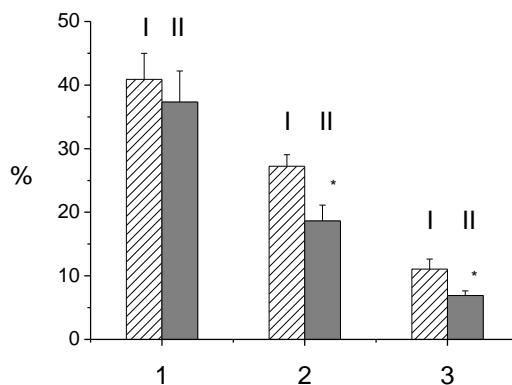


Рис. 4.52 Розміри зон уражень серця після ішемії-реперфузії міокарда в контрольній (ішемія-реперфузія) групі (I) та при помірній активації SUR-рецепторів субстанцією флокаліну (II); 1 – зона ризику/площа лівого шлуночка (%), 2 – зона некрозу/зона ризику (%), 3 – зона некрозу/площа лівого шлуночка (%), * $P<0,05$ порівняно з контрольними значеннями (ішемія-реперфузія без активації SUR)

Дещо потужніша стимуляція SUR-рецепторів таблетками флокаліну-Л ($n=5$) та -Зд ($n=5$) за експериментальної ішемії-реперфузії міокарда також призводила до зміни відношень площ зон міокарда лівого шлуночка (табл. 4.37) [28, 78].

В першому випадку відношення площі зони некрозу до площі зони ризику становить у середньому $21,26\% \pm 2,07\%$ ($P<0,05$), тобто зменшується порівняно з

контрольними даними на $21,98 \% \pm 1,69 \%$ (табл. 4.37). Вірогідно зменшується і відношення площі зони некрозу до площі лівого шлуночка і становить у середньому $6,35 \% \pm 0,73 \%$ ($P < 0,05$), а отже, у порівнянні з контрольними даними ($11,05 \%$), розмір зони інфаркту міокарда в експериментах з активацією SUR флокаліном-Л зменшується на $42,53 \% \pm 2,91 \%$ (рис. 4.53) [28, 78]. Водночас відношення площі зони ризику до площі лівого шлуночка вірогідно не відрізнялося від контрольних значень і становило $38,4 \pm 3,77$ ($P < 0,05$) та $40,9 \% \pm 4,1 \%$ ($P < 0,05$) відповідно.

Таблиця 4.37

Розміри зон уражень серця після ішемії-реперфузії міокарда в контрольній групі (ішемія-реперфузія, $n=7$) та при стимуляції SUR-рецепторів таблетками флокаліну-Л ($n=5$) та флокаліну-Зд ($n=5$) в дозі $2,2 \text{ мг/кг}$, ($M \pm m$).

Група	Зона ризику/ площа лівого шлуночка (%)	Зона некрозу/ зона ризику (%)	Зона некрозу/ площа лівого шлуночка (%)
Ішемія-реперфузія	$40,9 \pm 4,1$	$27,25 \pm 1,8$	$11,05 \pm 0,72$
Активация SUR (флокаліном-Л) + ішемія-реперфузія	$38,4 \pm 3,77$	$21,26 \pm 2,07 *$	$6,35 \pm 0,73 *$
Активация SUR (флокаліном-Зд) + ішемія-реперфузія	$37,08 \pm 2,63$	$22,12 \pm 1,64 *$	$7,29 \pm 0,68 *$

Примітка. $*P < 0,05$ – відносно до значень при ішемії-реперфузії без активації SUR.

Аналогічні зміни зон ураження міокарда спостерігалось при стимуляції SUR-рецепторів флокаліном-Зд – відношення площі зони некрозу до площі зони ризику зменшується до $22,12 \pm 1,64$ ($P < 0,05$), а до площі лівого шлуночка до $7,29 \% \pm 0,68 \%$ ($P < 0,05$), (табл. 4.37). А отже, у порівнянні з контрольними даними ($11,05\%$), розмір зони інфаркту міокарда при активації SUR зменшувалося на $34,03 \% \pm 2,91\%$ (див. рис. 4.53). Слід зауважити, що як і в попередніх дослідях, в цій серії експериментів відношення площі зони ризику до площі лівого шлуночка

за активації вищезгаданих рецепторів та в контрольній групі також вірогідно не відрізнялося і становило $37,08 \pm 2,63$ ($P < 0,05$) та 40,9 % відповідно (див. табл. 4.37, рис. 4.53) [28].

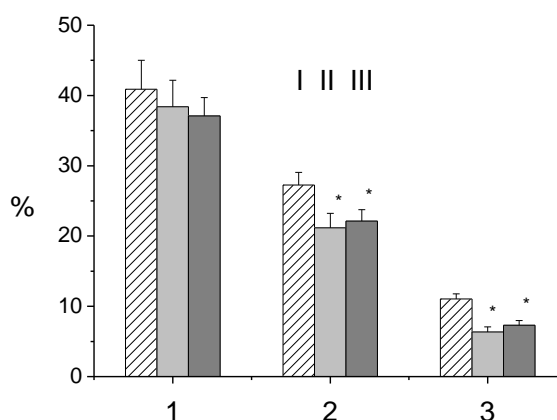


Рис. 4.53 Розміри зон уражень серця після ішемії-реперфузії міокарда в контрольній групі (I) та при активації SUR-рецепторів таблетками флокаліну-Л (II) та флокаліну-Зд (III) в дозі 2,2 мг/кг; 1 – зона ризику/площа лівого шлуночка (%), 2 – зона некрозу/зона ризику (%), 3 – зона некрозу/площа лівого шлуночка (%), * $P < 0,05$ порівняно з контрольними значеннями (ішемія-реперфузія без активації SUR)

Таким чином, в експериментах *in vivo* за експериментальної гострої ішемії-реперфузії міокарда анестезованих собаках показано, що активація SUR-рецепторів K_{ATP} -каналів призводить до зміни відношень площ зон міокарда лівого шлуночка та зменшення розміру інфаркту міокарда порівняно з контролем максимально на 42,5 % [28, 29, 36, 69, 70, 78, 88, 93, 493].

4.3. Електронно-мікроскопічні дослідження міокарда після ішемії-реперфузії ізольованого серця

За допомогою електронно-мікроскопічних досліджень визначено вплив активації SUR-рецепторів на ультраструктурні порушення міокарда, що були індуковані експериментальною ішемією-реперфузією (20 та 40 хв відповідно)

ізолюваного перфузованого по Лангендорфу серця морських свинок [36, 89, 538].

Проведено 2 серії експериментів: контрольна (ішемія-реперфузія) та дослідна, в якій перед створенням ішемії протягом 5 хв активували SUR-рецептори K_{ATP} -каналів сарколемальних та мітохондріальних мембран клітин за допомогою перфузузії ізолюваних серць флокаліном (5 мкмоль/л). Після ішемії-реперфузії серця піддавалися електронно-мікроскопічним дослідженням.

Ішемія-реперфузія ізолюваного серця супроводжувалася значними ультраструктурними порушеннями міокарда (рис 4.54, а). При ішемічно-реперфузійному пошкодженні у більшості кардіоміоцитів спостерігалися такі зміни: конденсація ядерного хроматину, контрактури та лізис міофіламентів, набряк та деструкція мітохондрій, порушення цілісності сарколеми та ін. Це свідчить про розвиток незворотніх некротичних процесів у міокарді, які пов'язані з порушенням кардіо-гемодинамічних показників.

Водночас вперше показано, що стимуляція SUR-рецепторів флокаліном в значній мірі попереджувала ці пошкодження кардіоміоцитів: сприяла збереженню цілісності сарколеми (лантан, який при виникненні мікродефектів цитоплазматичної мембрани проникає в міоцити, в наших дослідях, з активацією каналів – локалізувався екстрацелюлярно) та структури внутрішньоклітинних органел, призводила до зменшення кількості контрактур міофіламентів. Крім того, активація SUR в значній мірі попереджувала деструкцію мітохондрій, що сприяло збереженню енергетичного потенціалу міокарда (рис 4.54, б).

Слід зауважити, що ці дані свідчать про мембраностабілізуючу дію стимуляції цих рецепторів, що збігається зі зменшенням вмісту вільної арахідонової кислоти у різних зонах серця та плазмі крові за ішемії-реперфузії міокарда при активації SUR, що може свідчити про гальмування деградації фосфоліпідів клітинних мембран, зокрема, Ca^{2+} -залежною фосфоліпазою A_2 . Таким чином, ще одним кардіопротекторним механізмом активації SUR-рецепторів K_{ATP} -каналів слід вважати їх мембраностабілізуючу дію, що за умов ішемії-реперфузії сприяє збереженню цілісності сарколеми, структури внутрішньоклітинних органел та попереджує деструкцію мітохондрій.

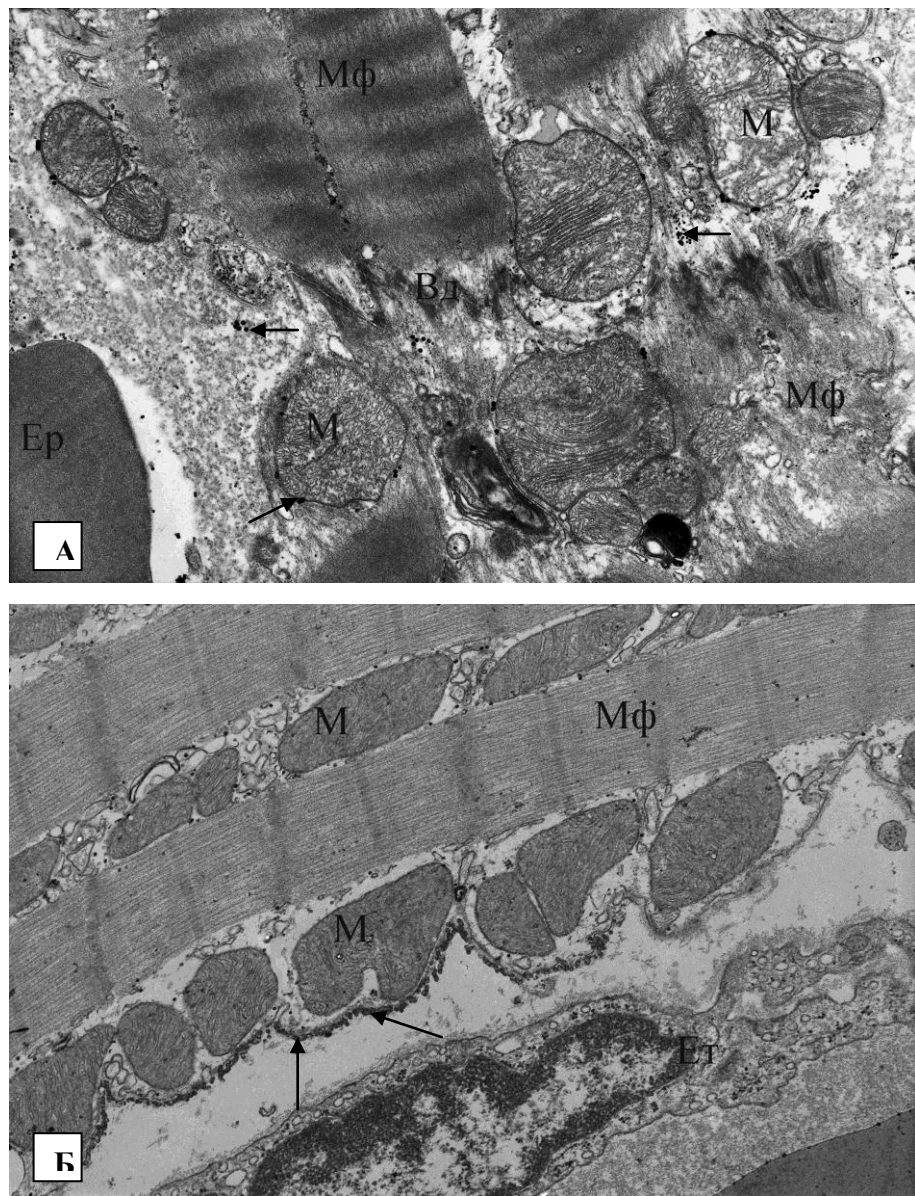


Рис. 4.54 Вплив стимуляції SUR-рецепторів на розвиток ультраструктурних змін в міокарді за умов ішемії–реперфузії ізолюваного серця морської свинки.

А. Ішемія-реперфузія міокарда. Виражені контрактири міофіламентів (МФ), набухання мітохондрій (М) з руйнацією крист, наявність колоїдного лантану в цитоплазмі та на зовнішній мембрані мітохондрій (стрілки). Ер- еритроцит.

Зб. 8000

Б. Ішемія-реперфузія міокарда за активації SUR-рецепторів K_{ATP} -каналів. Ультраструктура міофіламентів та мітохондрій збережена. Незначний міжклітинний набряк. Колоїдний лантан локалізований екстрацелюлярно (стрілки). Ет- ендотелій капіляру. Зб. 8000

4.4. Пригнічення Ca^{2+} -індукованого набухання ізольованих мітохондрій

Навантаження Ca^{2+} і оксидативний стрес є відомими індукторами неселективної циклоспоринчутливої мітохондріальної пори (МП), яка є важливим регулятором функціонування мітохондрій як за фізіологічних, так і патологічних умов, та відіграє ключову роль у клітинних порушеннях [209, 551]. При фізіологічних умовах МП функціонує в режимі низької провідності та характеризується циклічністю роботи, подібною за механізмом до кальційіндукованого вивільнення у цитозоль Ca^{2+} з ендоплазматичного ретикулума. Функціонування МП у режимі високої провідності – явище незворотне і пов'язане з тяжкими наслідками для функції та структури мітохондрій і клітини в цілому. Цей режим ініціюється зокрема масивним некерованим входом Ca^{2+} в мітохондрію і призводить до осмотичних змін і утворення в них зон набухання та деструкції. При цьому в цитоплазму вивільнюється фактор індукції апоптозу (AIF) і цитохром *c*, які є тригерами апоптозу [187, 249, 250].

Характерні криві спонтанного (контроль у безкальцієвому середовищі) та кальційіндукованого набухання мітохондрій, що відбувалося внаслідок відкривання МП у серці шурів показані на рис. 4.55. У контролі зміна рівнів набухання ($\Delta, \%$) становила 7,28. В умовах навантаження мітохондрій кальцієм відбувалося високоамплітудне набухання, величина якого була $\Delta, \% = 17,96$. Слід зауважити, що останнє практично повністю попереджалося ЦсА (10 мкмоль/л), (рис. 4.55, а). Слід зауважити, що преінкубація ізольованих мітохондрій з інгібіторами міто K_{ATP} -каналів 5-ГД (0,1 ммоль/л) та Гбк (0,1 ммоль/л) не змінювала набухання органел, що було індуковане іонами Ca^{2+} (рис. 4.55, б). Цей факт може свідчити, що інгібування згаданих каналів не впливає на кальційіндуковане відкривання МП та збільшення об'єму матриксу мітохондрій.

Вперше показано, що стимуляція SUR-рецепторів в ізольованих мітохондріях флокаліном чи тіофлокаліном зменшує рівень кальційіндукованого

набухання органел у серці щурів (рис. 4.56) [40, 68, 72, 74, 489].

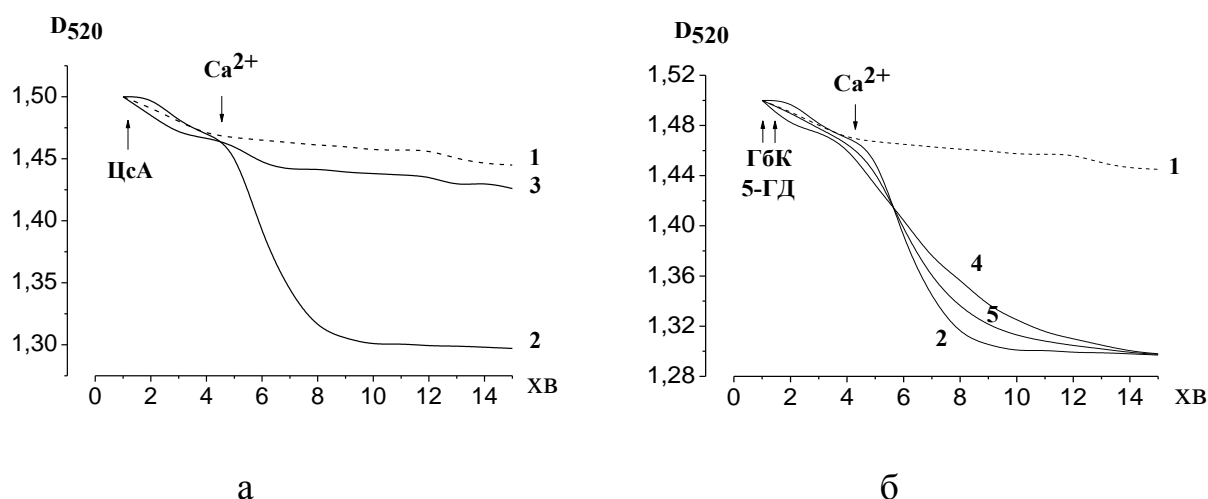


Рис. 4.55 Вплив інгібітора мітохондріальної пори циклоспорина А (а) та блокаторів K_{ATP} -каналів (б) – Гбк та 5-ГД на кальційіндуковане набухання мітохондрій серця щурів: 1 - контроль; 2 – дія Ca^{2+} (0,1 ммоль/л), 3 – преінкубація з циклоспорином А (50 мкмоль/л) та дія Ca^{2+} , 4 – преінкубація з Гбк (0,1 ммоль/л) та дія Ca^{2+} ; 5 – преінкубація з 5- ГД (0,1 ммоль/л) та дія Ca^{2+} .

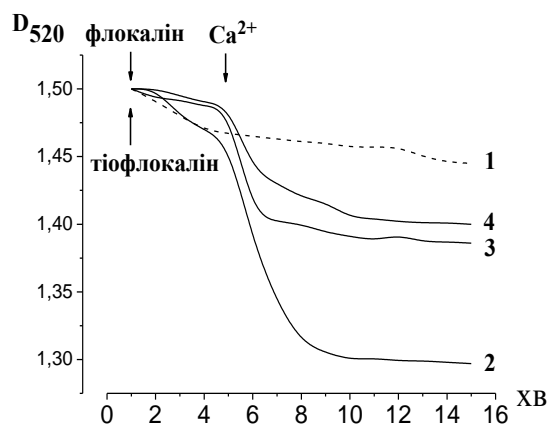


Рис. 4.56 Вплив активації SUR-рецепторів міто K_{ATP} -каналів на кальційіндуковане набухання мітохондрій серця щурів: 1 – контроль, 2 – дія Ca^{2+} (0,1 ммоль/л), 3 – преінкубація з флоккаліном (50 мкмоль/л) та дія Ca^{2+} , 4 – преінкубація з тіофлоккаліном (5 мкмоль/л) та дія Ca^{2+}

Отже, стимуляція SUR-рецепторів попереджала кальційіндуковане відкривання МП у серці тварин. Причому ці ефекти мали дозозалежний характер

(рис. 4.57). Зокрема, введення у інкубаційний розчин флокаліну у концентраціях 10, 50 і 100 мкмоль/л зменшувало величину набухання ізольованих мітохондрій серця щурів, що було індуковане іонами кальцію на 23,89, 50,45 і 100 % відповідно (див. рис. 4.57, а). Додавання тіофлокаліну (1, 5 і 10 мкмоль/л) пригнічувало це набухання на 20,18, 68,96 і 100 % відповідно (див. рис. 4.57, б). Напівмаксимальні ефекти інгібування (IC_{50}) кальційіндукованого набухання мітохондрій і, як наслідок, відкривання МП, які становили 50 та 2,7 мкмоль/л для флокаліну та тіофлокаліну відповідно (рис. 4.58).

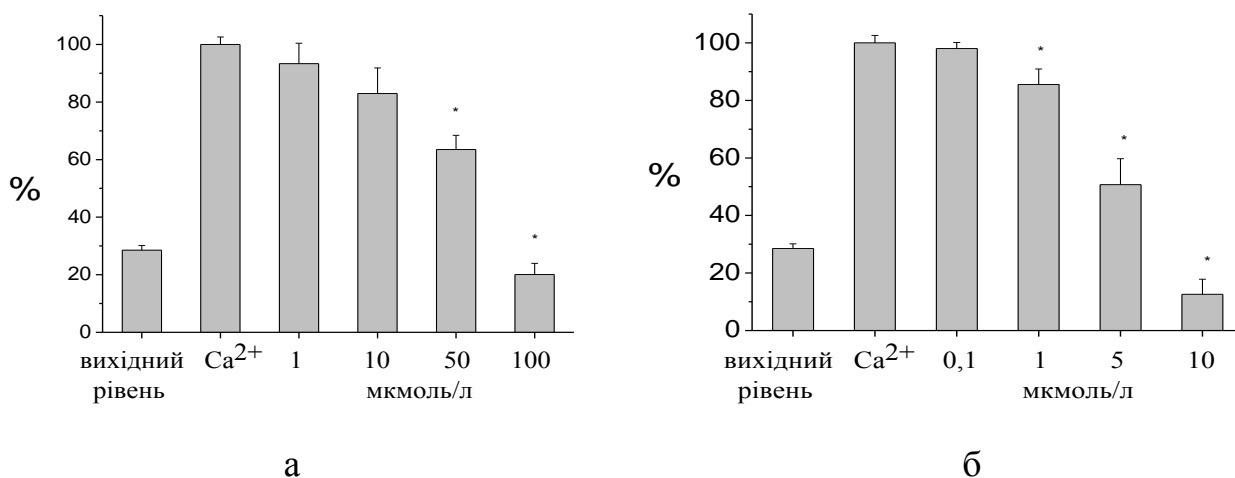


Рис. 4.57 Зміна Ca^{2+} -індукованого (0,1 ммоль/л) набухання мітохондрій серця щурів від стимуляції SUR-рецепторів різними дозами флокаліну (а) та тіофлокаліну (б), * $P < 0,05$ порівняно з дією Ca^{2+} (0,1 ммоль/л).

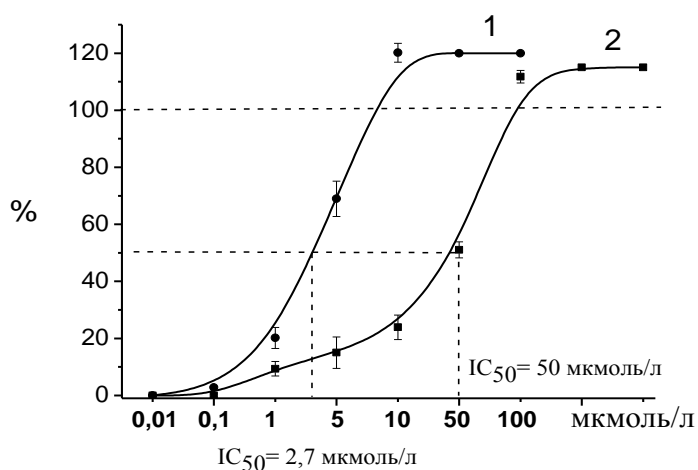


Рис. 4.58 Інгібування Ca^{2+} -індукованого (0,1 ммоль/л) набухання мітохондрій серця щурів (криві доза – ефект від 0 до 100%) при стимуляції SUR-рецепторів різними дозами тіофлокаліну (1) та флокаліну-С (2)

Повне інгібування кальційіндукованого набухання мітохондрій у серці спостерігали при стимуляції SUR-рецепторів флокаліном та тіофлокаліном у концентраціях 100 і 10 мкмоль/л відповідно. Отже, отримані результати вказують на те, що тіофлокалін на порядок сильніше попереджає кальційіндуковане набухання МП, ніж флокалін, тобто є потужнішим стимулятором SUR-рецепторів міто- K_{ATP} -каналів. Що було підтверджено в експериментах з попередньою індукцією набухання та наступною активацією SUR, зокрема, через 5 та 60 с після додавання кальцію. Виявлено, що у першому випадку стимуляція SUR частково пригнічувала високоамплітудне кальційзалежне набухання мітохондрій серця (рис. 4.59). А інгібітор цих рецепторів Гбк запобігав описаним ефектам. Водночас їх активація за 60 с після індукції МП не мало суттєвого протекторного ефекту (див. рис. 4.59).

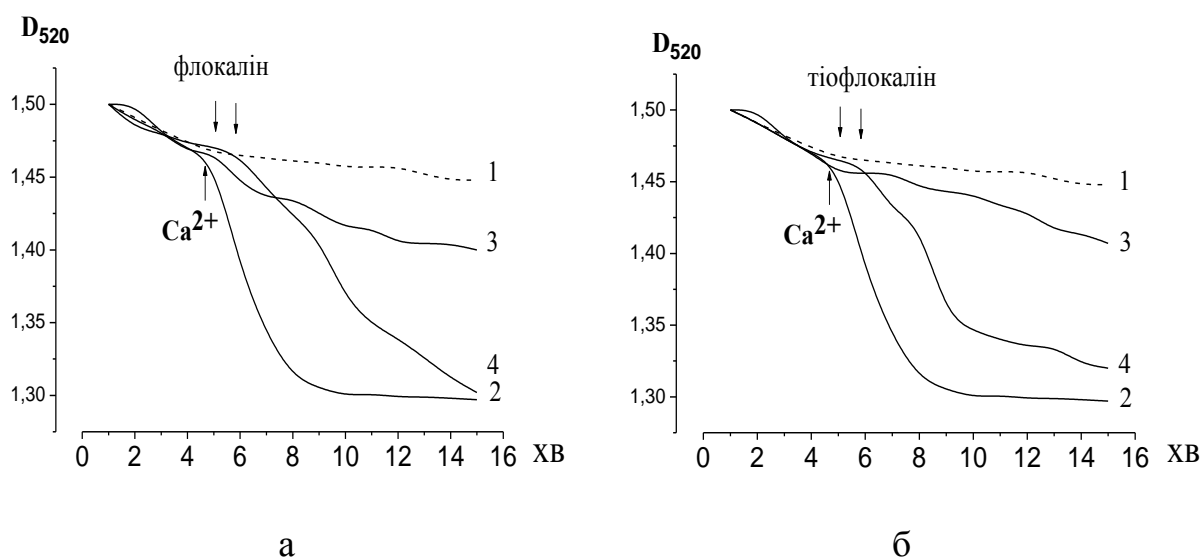


Рис. 4.59 Вплив стимуляції SUR-рецепторів флокаліном (0,1 ммоль/л) (а) та тіофлокаліном (10 мкмоль/л) (б) на кальційіндуковане набухання мітохондрій серця щурів: 1 – контроль; 2 – дія Ca^{2+} (0,1 ммоль/л); 3 – активація SUR через 5 с після додавання Ca^{2+} , 4 – активація SUR через 60 с після додавання Ca^{2+} .

Процес пороутворення тісно пов'язаний зі зміною проникності мітохондріальних мембран, що характеризується різною їх чутливістю до дії індукторів. Оскільки МП є структурною організацією мембран, то однією з характерних її властивостей є чутливість до індукторів її відкриття, зокрема до

Ca^{2+} та окисників. В експериментах з одноразовою активацією SUR-рецепторів у щурів *in vivo* для встановлення чутливості МП до кальцію у серці показано, що стимуляція SUR зменшує чутливість МП до кальцію (рис. 4.60).

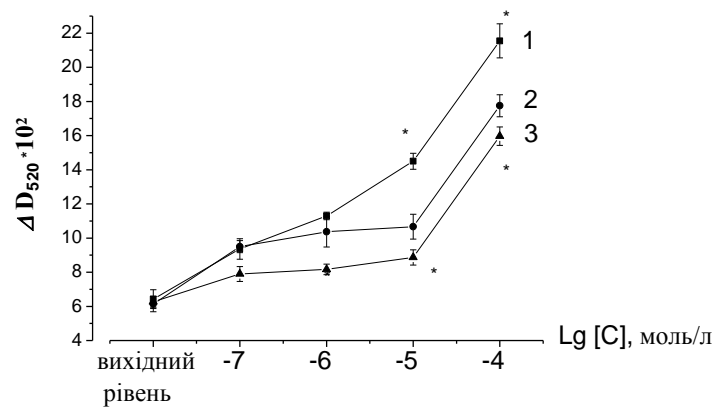


Рис. 4.60 Зміни чутливості МП до індуктора Ca^{2+} у серці щурів за умов активації SUR-рецепторів *in vivo*: 1 – контроль 2 – дія флокаліну (2 мг/кг), 3 – дія тіофлокаліну (2 мг/кг); * $P < 0,05$ порівняно з контрольними значеннями

Таким чином, в експериментах з кальційіндукованим набуханням мітохондрій вперше показано, що активація калійселективної проникності у внутрішній мембрані мітохондрій внаслідок стимуляції SUR-рецепторів міто- K_{ATP} -каналів флокаліном та тіофлокаліном призводить до дозозалежного інгібування відкривання МП у серці з більш потужною кардіопротекторною дією останнього [40, 68, 72, 74, 489]. Отримані дані дали змогу окреслити роль активації вищезгаданих рецепторів як кардіопротекторний механізм і регулятор утворення МП у серці, що може використовуватися для корекції мітохондріальної дисфункції при патологічних станах серцево-судинної системи.

4.5. Вплив активації SUR-рецепторів на апоптоз та некроз при аноксії-реоксигенації ізольованих неонатальних кардіоміоцитів

В експериментах на культурі ізольованих неонатальних кардіоміоцитів показано, що при відтворенні експериментальної аноксії-реоксигенації (30 та 60

хв відповідно) в культурі кардіоміоцитів відбуваються патологічні процеси, які спричиняють активацію процесів некрозу та апоптозу – зменшується співвідношення живих клітин до некротичних та апоптотичних (табл. 4.38 та 4.39, рис. 4.61). Зокрема, кількість живих за аноксії-реоксигенації відносно контрольних експериментів зменшувалася на $15,88 \% \pm 1,83 \%$ ($n=9$, $P<0,05$). Некротичних та апоптотичних збільшувалася у 2,83 раза ($n=9$, $P<0,05$) та на $55,56 \% \pm 4,85\%$ ($n=9$, $P<0,05$) відповідно [41, 74, 80].

Таблиця 4.38

Вплив стимуляції SUR-рецепторів на співвідношення (%) живих, некротичних та апоптотичних клітин у культурі неонатальних кардіоміоцитів під час аноксії-реоксигенації (A-P), ($M \pm m$).

№	Умови експерименту	Живі клітини	Некротичні клітини	Апоптотичні клітини
1	Контроль, ($n=8$)	$88,04 \pm 0,96$	$5,75 \pm 0,81$	$6,21 \pm 0,48$
2	Аноксія-реоксигенація, ($n=9$)	$74,06 \pm 1,97$ *	$16,27 \pm 1,43$ *	$9,66 \pm 1,35$ *
3	Помірна активація SUR + A-P, ($n=9$)	$88,13 \pm 0,99$ **	$7,90 \pm 0,81$ **	$3,97 \pm 0,43$ ***
4	Потужна активація SUR + A-P, ($n=5$)	$75,26 \pm 3,58$ *	$17,06 \pm 3,34$ *	$7,68 \pm 2,28$

Примітки:

1. * $P<0,05$ порівняно зі значеннями в контролі;
2. ** $P<0,05$ порівняно зі значеннями при аноксії-реоксигенації.

Досліджуючи антиішемічні ефекти активації SUR-рецепторів використовували їх помірну і потужну стимуляцію за допомогою двох доз флокаліну – 5 та 20 мкмоль/л, які є близькими до середньо-ефективних: перша – активації SUR-рецепторів K_{ATP} -каналів, друга – сильної активації SUR і, разом з цим, напів-максимального блокування високопорогових кальцієвих каналів [6, 69, 80, 535, 536, 538].

Вперше показано, що помірна стимуляції SUR-рецепторів в експериментах

з аноксією-реоксигенацією призводила до зсуву співвідношення живих, некротичних та апоптотичних клітин у бік живих, відсоток яких практично не відрізнявся від контрольних експериментів (див. табл. 4.37, рис. 4.61).

Таблиця 4.39

Розрахункові показники впливу помірної та потужної стимуляції SUR-рецепторів флокаліном у дозах 5 та 20 мкмоль/л на співвідношення живих, некротичних та апоптотичних клітин в культурі неонатальних кардіоміоцитів під час аноксії-реоксигенації (A-P), ($M \pm m$), * $P < 0,05$

№	Розрахункові показники	Живі клітини	Некротичні клітини	Апоптотичні клітини
1	(A-P) в порівнянні контролю	$\downarrow 15,88 \pm 1,83 \% *$	$\uparrow 2,83$ рази *	$\uparrow 55,56 \pm 4,85 \% *$
2	Помірна активація SUR + A-P в порівнянні до контролю	Зміни практично відсутні	$\uparrow 1,37$ рази *	$\downarrow 36,07 \pm 4,02 \% *$
3	Помірна активація SUR + A-P в порівнянні до A-P	$\uparrow 19,0 \pm 1,82 \% *$	$\downarrow 2,06$ рази *	$\downarrow 2,43$ рази *
4	Потужна активація SUR+A-P в порівнянні до контролю	$\downarrow 14,52 \pm 2,06 \% *$	$\uparrow 2,97$ рази *	$\uparrow 23,67 \pm 12,06 \%$
5	Потужна активація SUR+A-P в порівнянні до A-P	Зміни практично відсутні	$\uparrow 4,86 \pm 7,46 \%$	$\downarrow 20,50 \pm 3,97 \% *$

При цьому відсоток живих клітин був вищим на $19,0 \pm 1,82 \%$ ($n=9$, $P < 0,05$) порівняно до експериментів з відтворенням аноксії-реоксигенації без активації SUR (див. табл. 4.39). Отже, помірна стимуляція SUR-рецепторів запобігає збільшенню загальної смертності клітин під час аноксії-реоксигенації. Водночас спостерігається деяка зміна у механізмах загибелі клітин (рис. 4.62). Зокрема, зменшувалися процеси некрозу та апоптозу у 2,06 та 2,43 рази ($n=9$, $P < 0,05$) відповідно (див. табл. 4.39). Проте якщо за активації цих рецепторів аноксія-реоксигенація все ж таки посилювала процеси некрозу порівняно з контрольними експериментами (у 1,37 рази), то процеси апоптозу пригнічувалися настільки, що кількість апоптотичних кардіоміоцитів була на $36,07 \pm 4,02 \%$ ($n=9$, $P < 0,05$)

нижчою ніж у контрольних експериментах (див. табл. 4.39). Тобто активація SUR повністю запобігала розвитку апоптозу, що був індукований аноксією-реоксигенацією (рис. 4.62) [41, 74, 80].

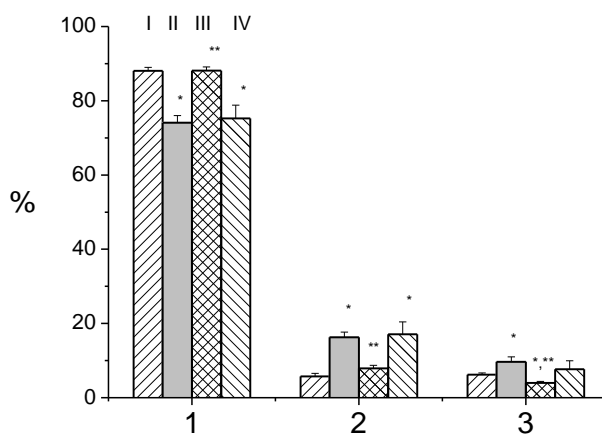


Рис. 4.61 Вплив помірної (III) та потужної (IV) стимуляції SUR-рецепторів на співвідношення (у %) живих (1), некротичних (2) та апоптотичних (3) клітин в культурі неонатальних кардіоміоцитів за аноксії-реоксигенації; I – контроль, II – аноксія-реоксигенація, * $P < 0,05$ порівняно зі значеннями в контролі, ** $P < 0,05$ порівняно зі значеннями при аноксії-реоксигенації

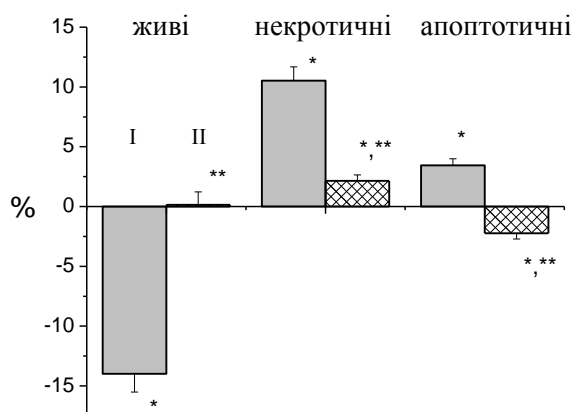


Рис. 4.62 Зміна кількості живих, некротичних та апоптотичних клітин у культурі неонатальних кардіоміоцитів за аноксії-реоксигенації при помірній стимуляції SUR-рецепторів; I – аноксія-реоксигенація, II – помірна стимуляція SUR і аноксія-реоксигенація, * $P < 0,05$ порівняно зі значеннями в контролі, ** $P < 0,05$ порівняно зі значеннями при аноксії-реоксигенації

Отримані дані відповідають ефектам стимуляції SUR-рецепторів діазоФм в

аналогічних експериментах [33], який зменшував кількість некротичних та апоптотичних клітин на 44,8% та у 2,61 раза відповідно. При цьому кількість живих збільшувалася 16%. Слід зауважити, що активація SUR в за допомогою діазоФм та діазоксиду перед ішемією-реосигенацією неонатальних кардіоміоцитів, як і в нашому випадку з флокаліном, практично повністю запобігала розвитку апоптозу, що був нею індукований [33].

Крім відомих механізмів, що призводять до зменшення апоптотичних процесів за активації K_{ATP} -каналів (зменшення навантаження мітохондрій іонами Ca^{2+} та пригнічення утворення вільних радикалів, попередження відкривання МП та інгібування звільнення цитохрома c, активація білка BCL₂ та інгібування білка Вах, що індукує апоптоз [26, 106, 345]), також можуть мати місце ще такі механізми пригнічення механізмів загибелі клітин:

- зниження деградації пуринових нуклеотидів – АТФ, ГТФ, та відповідно, рівня неорганічного фосфату (зменшення апоптозу та некрозу);
- підвищення рівнів конститутивного та пригнічення індукцйбельного синтезу оксиду азоту (зменшення апоптозу та некрозу);
- обмеження генерації вільних радикалів кисню та азоту (зменшення апоптозу та некрозу);
- зменшення активності фосфоліпази A₂, запобігання руйнування клітинної мембрани та збереження структури внутрішньоклітинних органел (зменшення некрозу);
- зменшення активності ліпоксигенази (зменшення некрозу) та ксантинооксидази (зменшення апоптозу та некрозу);
- збільшення активності гемоксигенази та утворення CO, дія якого на апоптоз є подібною до впливу оксиду азоту (зменшення апоптозу).

При потужній стимуляції SUR-рецепторів флокаліном (20 мкмоль/л) захисту від аноксії-реоксигенації не відбувалося (див. табл. 4.38, рис. 4.61). Кількість живих клітин практично не відрізнялася від експериментів з аноксією-реоксигенацією і була зменшеною порівняно з контролем на $14,52 \pm 2,06$ % (n=5, P<0,05), при аноксії-реоксигенації без активації SUR була зменшена на 15,88 %

(див. табл. 4.38). Відсоток некротичних клітин порівняно з контролем зростав у 2,97 рази ($n=5$, $P<0,05$), що достовірно не відрізнялося від експериментів з аноксією без активації SUR (див. табл. 4.39). Водночас навіть при відсутності ознак кардіопротекції (по співвідношенню живих клітин), при потужній стимуляції SUR дещо зменшувалися апоптичні процеси за аноксії-реоксигенації. Незважаючи на те, що відсоток апоптотичних клітин порівняно з контролем зростав на $23,67 \pm 12,06$, проте він був менший ніж при аноксії-реоксигенації без активації SUR на $20,50 \% \pm 3,97 \%$ ($n=5$, $P<0,05$). Виходячи зі співвідношення живі-некротичні-апоптичні клітини слід зауважити, що це відбувається за рахунок деякого збільшення живих та некротичних клітин (див. табл. 4.39) [74, 80].

Отже, в експериментах на культурі ізольованих неонатальних кардіоміоцитів вперше показано кардіопротекторний вплив помірної стимуляції SUR-рецепторів флокаліном (5 мкмоль/л) на виживання клітин при аноксії-реоксигенації, розвиток некротичних та апоптотичних процесів. Вона спричиняла зсув співвідношення живих, некротичних та апоптотичних клітин в бік живих, відсоток яких практично не відрізнявся від контрольних експериментів без аноксії-реоксигенації. Активація SUR зменшувала процеси некрозу вдвічі та повністю запобігала апоптозу, індукованого аноксією-реоксигенацією, пригнічувала процеси апоптозу у культурі кардіоміоцитів настільки, що він був значно меншим ніж у контрольних експериментах [41, 74, 80].

Таким чином, основними кардіопротекторними механізмами активації SUR-рецепторів K_{ATP} -каналів при ішемії-реперфузії міокарда слід вважати:

- помірне зниження артеріального тиску, що послаблює навантаження на уражене серце і сприяє збереженню серцевого викиду в перші години ішемії, попередження реперфузійного підвищення загальнопериферичного опору та опору коронарних судин серця, та відносне збереження показників скоротливої активності міокарда в період реперфузії;
- попередження значного зростання надлишкового індуцибельного і реутилізаційного та, навпаки, підвищення протективного конститутивного синтезу оксиду азоту та пригнічення деградації L-аргініну аргіназою;

- пригнічення вільнорадикальних реакцій та антиокиснювальні властивості флокаліну, значне обмеження генерації активних форм кисню (оксидативного стресу) та азоту (нітрозативного стресу), та підвищення активності ферментів АОС – каталази та СОД;
- зменшення утворення патогенних в умовах ішемії міокарда лейкотриєну C_4 та тромбоксану B_2 – які мають потужну коронароконстрикторну, аритмогенну та прооксидантну дію;
- пригнічення деградації АТФ, стимуляцію гемоксигеназної реакції та зменшення утворення сечовини та сечової кислоти, які у високих концентраціях є токсичними, а у низьких – антиоксидантами, та підвищення рівнів сфінгозину, який посилює конститутивний синтезу оксиду азоту;
- мембраностабілізуюча дія, можливо внаслідок пригнічення активності фосфоліпази A_2 (зменшення рівнів вільної арахідонової кислоти), що може послаблювати руйнування клітинних мембран (деградацію фосфоліпідів);
- попередження відкривання мітохондріальної пори та таких процесів клітинної смерті як апоптоз та некроз.

Свідченням потужної антиішемічної дії активації SUR є інгібування реутилізаційного синтезу оксиду азоту, який має місце винятково в умовах ішемії, та підвищення вмісту нітрит-аніона, що утворюється спонтанно при окисненні оксиду азоту лише в оксигенованих розчинах. Всі вищезгадані кардіопротекторні механізми, що запускаються при стимуляції SUR сприяють збереженню цілісності сарколеми та структури внутрішньоклітинних органел, попереджують деструкцію мітохондрій та зменшують зону інфаркта міокарда на 40%. Показано, що в кардіопротекторних ефектах активації SUR при ішемії-реперфузії міокарда приймають участь K_{ATP} -канали як мітохондріальної, так і сарколемальної мембрани: перші, в більшій мірі відповідають за збереження та відновлення скоротливої активності міокарда, другі, в основному, за підтримання нормального судинного тиску, зокрема, коронарного кровообігу.

РОЗДІЛ 5

ВИЗНАЧЕННЯ ОПТИМАЛЬНОГО ДЛЯ КАРДІОПРОТЕКЦІЇ СТУПЕНЮ
АКТИВАЦІЇ SUR-РЕЦЕПТОРІВ КАЛІЄВИХ КАНАЛІВ

Оптимальний для кардіопротекції рівень активації SUR-рецепторів калієвих каналів (який моделювали введенням різних доз флокаліну-3 (1,5, 2,2 і 3,3 мг/кг) оцінювали за розміром інфаркту міокарда, показниками кардіогемодинаміки та змінами активності NO-синтаз, утворення нітрит- та нітрат-аніонів, патогенних при ішемії LTC₄ та TxB₂, вільної арахідонової кислоти, та за вільнорадикальми процесами при ішемії-реперфузії міокарда у анестезованих собак *in vivo*.

5.1. Залежність розміру зони інфаркту від рівня активації SUR-рецепторів

Залежність розмірів ураження міокарда після експериментальної гострої ішемії-реперфузії міокарда від рівня активації SUR-рецепторів представлені в таблиці 5.1. Розрахунок величин ішемічного ураження міокарда показує, що після експериментальної ішемії-реперфузії у собак площа зони некрозу по відношенню до площі лівого шлуночка становить $11,07 \pm 0,74$ ($P < 0,05$, $n=8$), а відношення площі зони некрозу до площі зони ризику – $27,35 \% \pm 1,72 \%$ ($P < 0,05$, $n=8$). Вперше показано, що при активації SUR-рецепторів за допомогою флокаліну відбувається зменшення некротичної зони у серці та зміна відношень площ зон міокарда лівого шлуночка, а саме зменшення відношень площі зони некрозу до зони ризику і зони некрозу до площі лівого шлуночка (див. табл. 5.1 та рис. 5.1). Зокрема, при помірній ($n=5$), середній ($n=5$) та потужній ($n=4$) активації цих рецепторів відношення площі зони некрозу до площі зони ризику зменшується на $20,48 \pm 0,82$ ($P < 0,05$), $20,12 \pm 1,45$ ($P < 0,05$) та $18,7 \% \pm 1,61 \%$ ($P < 0,05$) відповідно, тоді як у контрольній групі це значення становить 27,35 % [38, 39, 90, 92].

Таблиця 5.1

Розміри зон уражень серця після ішемії-реперфузії міокарда в контрольній групі (ішемія-реперфузія, n=8) та при помірній (n=5), середній (n=5) та потужній (n=4) активації SUR-рецепторів калієвих каналів, ($M \pm m$) .

Група	Рівень активації SUR	Зона ризику/ площа лівого шлуночка (%)	Зона некрозу/ зона ризику (%)	Зона некрозу/ площа лівого шлуночка (%)
Ішемія-реперфузія	-	$38,9 \pm 4,1$	$27,35 \pm 1,72$	$11,07 \pm 0,74$
Активация SUR + ішемія-реперфузія	Помірний	$36,81 \pm 2,09$	$20,48 \pm 0,82 *$	$6,49 \pm 1,01 *$
Активация SUR + ішемія-реперфузія	Середній	$37,18 \pm 1,9$	$20,12 \pm 1,45 *$	$6,72 \pm 0,68 *$
Активация SUR + ішемія-реперфузія	Потужний	$35,05 \pm 4,19$	$18,7 \pm 1,61 *$	$6,99 \pm 0,55 *$

Примітка. * $P < 0,05$ – відносно контролю (ішемія-реперфузія без активації SUR)

При цих же рівнях активації SUR-рецепторів (помірний, середній та потужний) вірогідно зменшується і відношення площі зони некрозу до площі лівого шлуночка і складає $6,49 \pm 1,01$ ($P < 0,05$), $6,72 \pm 0,68$ ($P < 0,05$) та $6,99 \pm 0,55$ ($P < 0,05$) відповідно, в порівнянні $11,07 \%$ у контролі (див. табл. 5.1 та рис. 5.1), а отже розмір зони інфаркту міокарда в цих експериментах зменшується на $41,37 \pm 3,11$, $39,3 \pm 2,98$ та $36,86 \pm 3,52$ % відповідно (рис. 5.2). Водночас, показники відношення зони ризику до площі лівого шлуночка у всіх чотирьох групах тварин достовірно не відрізнялись (див. табл. 5.1 та рис. 5.1).

Таким чином, відсутність достовірної різниці щодо зменшення некротичної ділянки серця в усіх експериментах з активацією SUR-рецепторів (рис. 5.2) не дозволяє нам визначити оптимальний для кардіопротекції рівень їх активації за цим показником [38, 92].

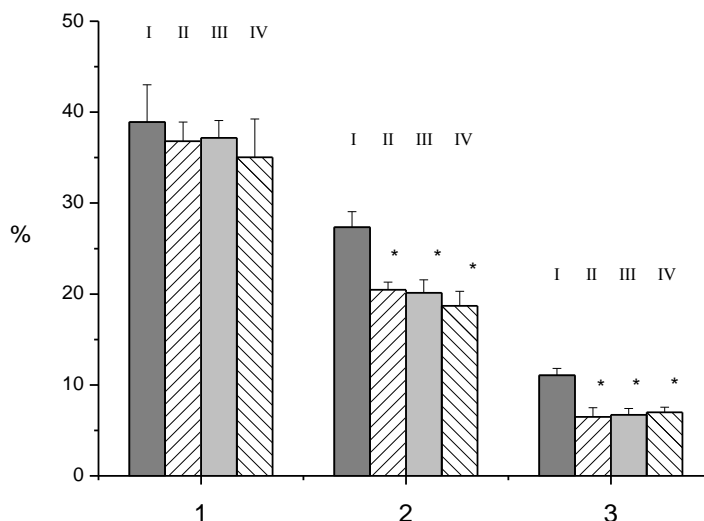


Рис. 5.1 Розміри зон уражень серця після ішемії-реперфузії міокарда в контрольній (ішемія-реперфузія) групі (I) та при помірній (II), середній (III) та потужній (IV) активації SUR-рецепторів:

1. Зона ризику/площа лівого шлуночка (%)
2. Зона некрозу/зона ризику (%)
3. Зона некрозу/площа лівого шлуночка (%)

* $P < 0,05$ по відношенню до контролю (ішемія-реперфузія без активації SUR)

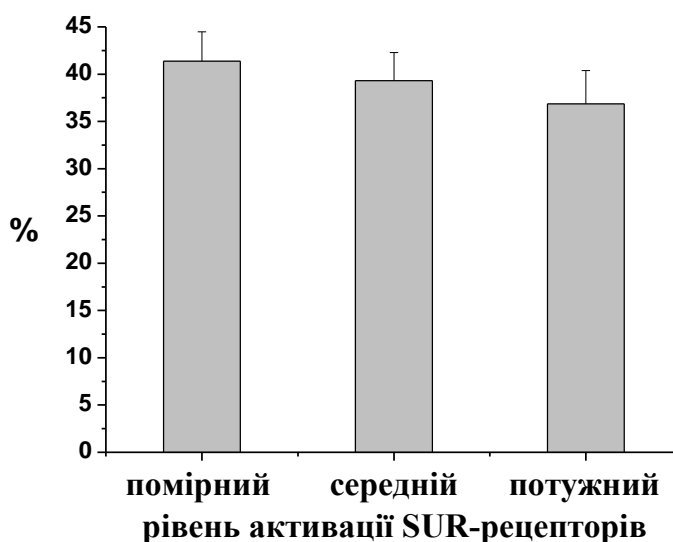


Рис. 5.2 Зменшення некротичної ділянки серця (розміру зони інфаркту) за ішемії-реперфузії міокарда при помірній, середній та потужній активації SUR-рецепторів порівняно з контролем (ішемія-реперфузія без активації SUR)

5.2. Залежність показників кардіогемодинаміки від рівня активації SUR-рецепторів при ішемії-реперфузії міокарда

Зміни показників кардіогемодинаміки за експериментальної гострої ішемії-реперфузії міокарда при помірній (n=6), середній (n=7) та потужній (n=5) активації SUR-рецепторів представлено в таблицях 5.2 - 5.5 [90, 92]. Аналіз результатів кардіогемодинаміки під час відтворення експериментальної гострої ішемії-реперфузії (контрольні експерименти, n=13) показав, що ішемія практично не впливає на КПТ та ЗПО (табл. 5.2, 5.3). Незначним чином зменшуються такі показники, як САТ та ЧСС. Дещо сильнішого зниження зазнає ТЛШ – 15,8 %, скоротлива функція міокарда (швидкість скорочення (dP/dt_{max}) та швидкість розслаблення лівого шлуночка (dP/dt_{min}) зменшуються від вихідного рівня відповідно на 20,7 та 19,9 %) та особливо ХОК на 28,6 % (60-та хвилина ішемії), (табл. 5.3).

Таблиця 5.2

Залежність перфузійного тиску в коронарних судинах (мм рт.ст.) у анестезованих собак за ішемії від рівня активації SUR-рецепторів, ($M \pm m$)

Рівень активації SUR	Вихідне значення	Час ішемії, хв			
		10	30	60	90
Контроль	173,25 ± 9,13	173,68 ± 8,94	173,37 ± 10,56	173,62 ± 14,52	180,72 ± 13,59
Помірний	171,74 ±15,34	144,38 ±11,89	139,26 ±12,67	137,32 ±11,11	147,5 ±10,21
Середній	190,22 ±10,57	170,47 ±16,88	167,74 ±16,35	171,58 ±19,2	179,07 ±24,21
Потужний	161,5 ±7,46	167,5 ±6,65	167,5 ±6,18	168,5 ±6,99	161,5 ±18,04

Примітка. *P<0,05 порівняно з вихідними даними тут, та в табл. 5.3 - 5.5.

Таблиця 5.3

Залежність показників кардіогемодинаміки у собак за ішемії від рівня активації
SUR-рецепторів, (M±m).

Показник	Рівень активації SUR	Вихідне значення	Час ішемії, хв			
			10	30	60	90
САТ, мм рт.ст	контроль	141,84 ± 7,31	130,13 ± 7,31	133,4 ± 7,6	130,1 ± 7,68	125,23 ± 8,51
	помірний	128,85 ±16,53	115,28 ±13,77	119,18 ±8,19	108,42 ±7,2	114,08 ±8,39
	середній	139, 8 ±8,74	129,05 ±7,29	127,2 ±6,43	130,13 ±6,73	114,08 ±6,92
	потужний	161,75 ±15,21	131,5 ±18,09	131,8 ±19,1	132,5 ±12,8	130 ±13,4
ТЛЩ, мм рт.ст	контроль	179,18 ± 10,27	155,51 ± 11,43	158,35 ± 10,15	158,08 ± 12,95	150,9 ± 11,7
	помірний	156,6 ±13,5	160,5 ±18,0	167,2 ±15,6	157 ±18,96	159,9 ±16,1
	середній	168,04 ±9,63	154,88 ±7,99	157,25 ±7,27	158,79 ±7,71	154,21 ±9,47
	потужний	178 ±8,55	145,75 ±11,71	146,25 ±10,63	144 * ±8,43	145,75 * ±5,53
dP/dt _{max} , мм рт.ст/сек	контроль	2706,2 ± 53,6	2425,8 ± 130	2407,7 * ± 95,7	2270,1 * ± 162,3	2145,8 * ± 172,1
	помірний	2683 ±61	2657 ±222	2586 ±177	2614 ±319	2713 ±413
	середній	2702,2 ±136	2464,3 ±86	2406,5 ±119	2409,7 ±153	2308,7 ±143
	потужний	2875 ±402	2550 ±253	2500 ±300	2475 ±249	2475 ±205

Продовження табл. 5.3

Показник	Рівень активації SUR	Вихідне значення	Час ішемії, хв			
			10	30	60	90
dP/dt _{min} , мм рт.ст/сек	контроль	2343,6 ± 63,9	2216,4 ± 104,1	2236,5 ± 104,6	2115,7 ± 116,3	1970,3 * ± 145,5
	помірний	2315 ±119	2086 ±189	2188 ±152	2027 ±238	2135 ±202
	середній	2354,9 ±92	2353,8 ±117	2380,6 ±110	2300,5 ±122	2205,8 ±118
	потужний	2350 ±131	1750 ±290	1800 ±173	1850 ±172	1850 ±190
ХОК, літр/хв	контроль	1,995 ±0,3	1,84 ±0,27	1,64 ±0,15	1,49 ±0,22	1,47 ±0,26
	помірний	2,02 ±0,25	2,24 ±0,41	1,8 ±0,08	1,78 ±0,13	1,73 ±0,3
	середній	1,75 ±0,26	1,61 ±0,25	1,48 ±0,3	1,56 ±0,39	1,31 ±0,3
	потужний	2,07 ±0,51	2,21 ±0,83	1,75 ±0,47	2,34 ±0,67	1,58 ±0,33
ЗПО, Н·сек·см ⁻⁵	контроль	5687,8 ±519	5657,8 ±442	6507,3 ±76	6985,2 ± 723	6815,2 ±372
	помірний	5103 ±340	4117,1 ±417	5296,9 ±445	4872,8 ±487	5275,4 ±1350
	середній	6390,85 ±435	6412,4 ±665	6875,7 ±820	6673,3 ±754	6966,7 ±928
	потужний	6251,2 ±1293	4760,2 ±2161	6025,1 ±1103	4529,9 ±1339	6582,3 ±975

Продовження табл. 5.3

Показник	Рівень активації SUR	Вихідне значення	Час ішемії, хв			
			10	30	60	90
ЧСС, уд/хв	контроль	174,75 ± 10,2	167,4 ± 7,67	171,78 ± 7,78	159,1 ± 5,78	154,25 ± 7,15
	помірний	167,7 ±11,2	157,5 ±15,6	148,8 ±15,3	161,3 ±14,8	148,7 ±20,5
	середній	185,3 ±11, 4	173,3 ±9,5	165,2 ±8,2	160,4 ±10,7	163,3 ±14,9
	потужний	183 ±15,4	159 ±13,5	161,25 ±12,1	159,75 ±11,7	156 ±11,7

Під час реперфузії КПП та ЗПО судин значно зростає, особливо на другу і третю годину реперфузії (табл. 5.4 та 5.5, рис. 5.3 та 5.4). Продовжує дещо зменшуватися ТЛШ, скоротлива функція міокарда та ХОК. Практично незмінними залишаються САТ та ЧСС (див. табл. 5.5) [90, 92].

Таблиця 5.4

Залежність перфузійного тиску в коронарних судинах (мм рт.ст.) у анастезованих собак під час реперфузії ішемізованого серця від рівня активації SUR, ($M \pm m$)

Рівень активації SUR	Вихідне значення	Час реперфузії, хв				
		10	30	60	120	180
Контроль	173,25 ± 9,13	199,85 ± 12,64	193,68 ± 13,97	208,65 * ± 10,45	211,63 * ± 15,36	205,16 ± 22,16
Помірний	171,74 ±15,34	162,94 ±8,65	167,75 ±22,86	166 ±19,05	169,68 ±19,85	171,63 ±20,29
Середній	190,22 ±10,57	180,16 ±15,82	177,63 ±16,1	176,55 ±15,18	181,72 ±16,38	190,34 ±16,82
Потужний	161,5 ±7,46	155 ±5,45	152,5 ±6,34	164,5 ±15,95	161,5 ±7,41	161 ±8,02

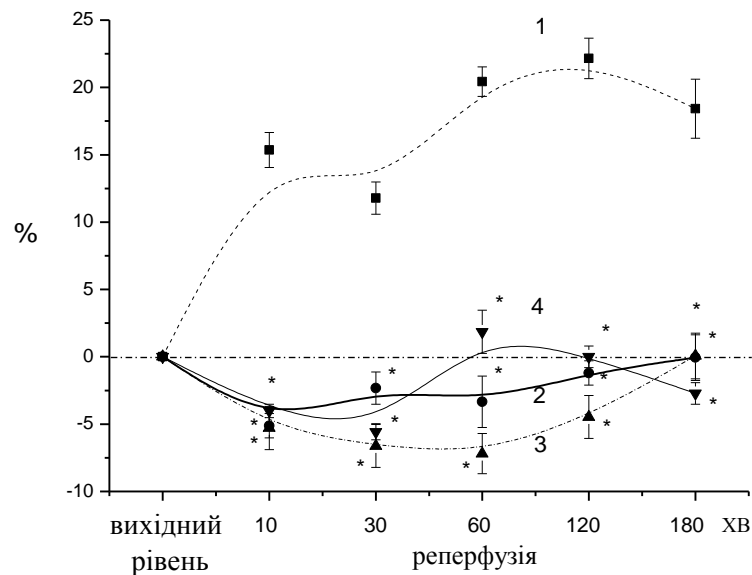


Рис.5.3 Залежність перфузійного тиску у коронарних судинах (в %) у анестезованих собак під час реперфузії ішемізованого серця від рівня активації SUR-рецепторів: 1 – контроль (ішемія-реперфузія), 2-4 – помірний, середній та потужний рівень активації SUR-рецепторів відповідно; * $P < 0,05$ порівняно зі значеннями при ішемії-реперфузії

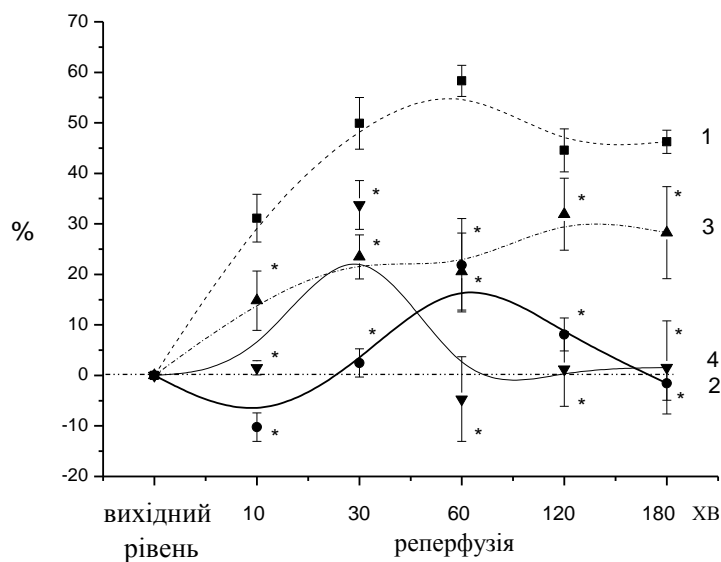


Рис. 5.4 Залежність загального периферичного опору (в %) у анестезованих собак під час реперфузії ішемізованого серця від рівня активації SUR-рецепторів: 1 – контроль (ішемія-реперфузія), 2-4 – помірний, середній та потужний рівень активації SUR-рецепторів відповідно; * $P < 0,05$ порівняно зі значеннями при ішемії-реперфузії

Активация SUR-рецепторів запобігала вазоконстрикції коронарних судин під час реперфузії ішемізованого серця (КПТ був наближеним до вихідного рівня (рис. 5.3, див. табл. 5.4)) та дещо знижувала рівень перфузійного тиску в них при ішемії, з найбільшим зниженням при помірній активації цих рецепторів (рис. 5.5). Тоді як в контрольних експериментах під час реперфузії він значно зростав і на 180 хв збільшувався на $18,99\% \pm 7,57\%$ (див. табл. 5.4 та рис.5.3) [90, 92].

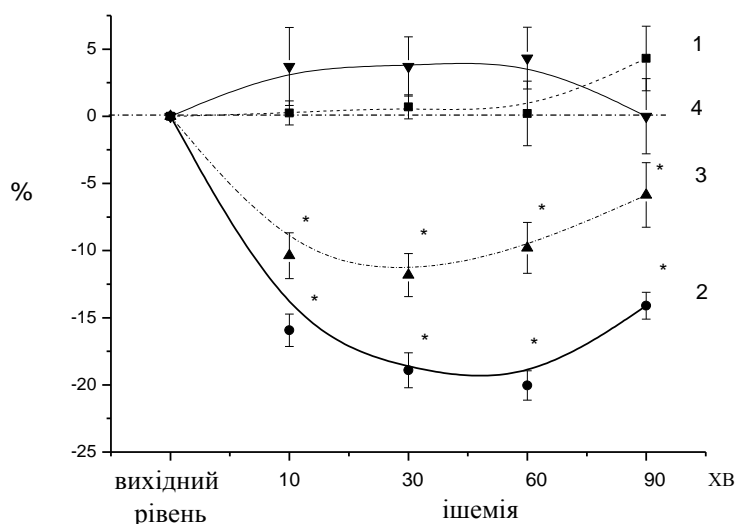


Рис. 5.5 Зміна перфузійного тиску у коронарних судинах (в %) у анестезованих собак під час ішемії за різного рівня активації SUR-рецепторів: 1 – контроль (ішемія-реперфузія), 2-4 – помірний, середній та потужний рівень активації SUR-рецепторів відповідно; * $P < 0,05$ порівняно зі значеннями при ішемії-реперфузії

Як видно з таблиць 5.3, 5.5 та рис. 5.6 зміни такого важливого показника, як САТ практично не відрізняється за ішемії-реперфузії міокарда у контрольних експериментах та при помірній активації SUR-рецепторів. Зі збільшенням ступеня активації SUR-рецепторів САТ знижувався більш суттєво, як за ішемії, так і за реперфузії, набуваючи при цьому достовірних змін по відношенню до вихідного рівня. Так, на початок реперфузії за середньої та потужної активації цих рецепторів він знижується на 17 та 20% відповідно, а на кінець реперфузії – на 20 та 29% відповідно.

В динаміці ішемії-реперфузії за активації SUR-рецепторів та в контролі практично однаково змінюється ЧСС – зменшується по ходу експерименту (табл.

5.3 та 5.5). Слід зауважити, що в дослідах де початкова частота була дещо збільшена, досить часто активація цих рецепторів сприяла її зниженню, а в дослідах де вона була дещо знижена, навпаки – її підвищенню. Що може свідчити про регуляторну властивість SUR-рецепторів K_{ATP} -каналів, щодо нормалізації серцевих скорочень.

Аналіз інших показників кардіогемодинаміки, слід зазначити, що в експериментах зі стимуляцією SUR-рецепторів (за виключенням найбільш потужної) відбувалося попередження зниження скоротливої функції серця при ішемії та значне покращення її відновлення під час реперфузії (табл. 5.3 та 5.5).

Таблиця 5.5

Залежність показників кардіогемодинаміки у собак під час реперфузії ішемізованого серця від рівня активації SUR-рецепторів, ($M \pm m$).

Показник	Рівень активації SUR	Вихідне значення	Час реперфузії, хв				
			10	30	60	120	180
САТ, мм рт.ст	контроль	141,84 $\pm 7,31$	128,64 $\pm 9,15$	126,83 $\pm 9,25$	126,06 $\pm 9,04$	122,83 $\pm 8,21$	122,7 $\pm 12,38$
	помірний	128,85 $\pm 16,53$	112,23 $\pm 9,89$	122,87 $\pm 8,02$	122,77 $\pm 17,21$	117,23 $\pm 8,63$	108,6 $\pm 7,95$
	середній	139,8 $\pm 8,74$	115,55* $\pm 7,20$	117,37* $\pm 6,02$	116,54* $\pm 7,76$	111,7* $\pm 6,81$	111,28* $\pm 6,96$
	потужний	161,75 $\pm 15,21$	129,3 $\pm 14,50$	127,5 $\pm 14,92$	113,2* $\pm 16,6$	118,7* $\pm 12,86$	114,3* $\pm 12,73$
ТЛШ, мм рт.ст	контроль	179,18 $\pm 10,27$	155,43 $\pm 11,92$	149,99 $\pm 11,62$	147,21* $\pm 10,68$	142,35* $\pm 10,96$	138,27* $\pm 13,47$
	помірний	156,6 $\pm 13,5$	157,3 $\pm 18,7$	165,5 $\pm 20,6$	164,6 $\pm 16,3$	157,2 $\pm 16,2$	139,1 $\pm 12,9$
	середній	168,04 $\pm 9,63$	150,22 $\pm 10,25$	151,91 $\pm 9,32$	146,87 $\pm 9,04$	146,09 $\pm 9,24$	138,26* $\pm 8,86$
	потужний	178 $\pm 8,55$	141* $\pm 8,28$	137,5* $\pm 8,77$	122,5* $\pm 10,3$	130* ± 5	125* ± 5

Продовження табл. 5.5

Показник	Рівень активації SUR	Вихідне значення	Час реперфузії, хв				
			10	30	60	120	180
dP/dt_{\max} , мм рт.ст/сек	контроль	2706,2 ± 53,6	2053 * ± 196,7	1681 * ± 162,9	1758,7 * ± 178,3	1583,1 * ± 299	1809,3 * ± 183,2
	помірний	2683 ± 61	2979 ± 406	2521 ± 386	2831 ± 260	2919 ± 378	2470 ± 60*
	середній	2702,2 ± 136	2038,3* ± 112	2177,7 * ± 134	2077,3 * ± 151	2022,7 * ± 129	2042 * ± 167
	потужний	2875 ± 402	2275 ± 213	2400 ± 294	2150 * ± 155	2467 * ± 88	2233 * ± 88
dP/dt_{\min} , мм рт.ст/сек	контроль	2343,6 ± 63,9	1895,1* ± 163,4	1899,3 ± 151,4	1614,6 * ± 138,6	1726,3 * ± 155	1660,9 ± 179,9
	помірний	2315 ± 119	1989 ± 152	2266 ± 88	2276 ± 124	2080 ± 115	1927 ± 202
	середній	2354,9 ± 92	2052,1 ± 127	2125,1 ± 174	2086 ± 165	2157,7 ± 119,7	2053 ± 119
	потужний	2350 ± 131	1775 ± 189	1650 ± 132	1575 ± 186	1567 ± 175	1567 ± 175
ХОК, літр/хв	контроль	1,995 ± 0,3	1,38 ± 0,26	1,19 ± 0,16	1,12 ± 0,18	1,195 ± 0,14	1,18 ± 0,2
	помірний	2,02 ± 0,25	1,96 ± 0,31	1,88 ± 0,33	1,58 ± 0,13	1,7 ± 0,1	1,73 ± 0,02
	середній	1,75 ± 0,26	1,26 ± 0,3	1,19 ± 0,2	1,21 ± 0,21	1,06 ± 0,14	1,06 ± 0,22
	потужний	2,07 ± 0,51	1,68 ± 0,47	1,22 ± 0,23	1,52 ± 0,47	1,5 ± 0,41	1,44 ± 0,43
ЗПО, $H \cdot \text{сек} \cdot \text{см}^{-5}$	контроль	5687,8 ± 519	7457,4 ± 1776	8526,4 * ± 573	9004,3 * ± 407	8222,9 * ± 622	8318,6 * ± 108
	помірний	5103 ± 340	4580,8 ± 424	5228,5 ± 871	6216,2 ± 1174	5516,7 ± 278	5022 ± 393
	середній	6390,85 ± 435	7336,5 ± 936	7890,4 * ± 560	7705,1 ± 1312	8430,2 * ± 1212	8196,2 ± 1696
	потужний	6251,2 ± 1293	6157,1 ± 179	8360,7 ± 709	5957,9 ± 1210	6330,7 ± 1758	6350 ± 2188

Показник	Рівень активації SUR	Вихідне значення	Час реперфузії, хв				
			10	30	60	120	180
ЧСС, уд/хв	контроль	174,75 ± 10,2	156,88 ± 4,43	162 ± 8,23	161,63 ± 6,81	166,63 ± 7,52	167,17 ± 11,28
	помірний	167,7 ±11,2	159,3 ±10,3	148,3 ±18,8	156,7 ±1, 7	160 ±5,8	151,7 ±1, 7
	середній	185,3 ±11, 4	159,6 ±17,4	168,8 ±14,4	165,9 ±16,2	169,6 ±18,2	170 ±15,6
	потужний	183 ±15,4	152,25 ±15,3	161,25 ±12,4	174 ±20,1	174 ±19,6	186 ±23,9

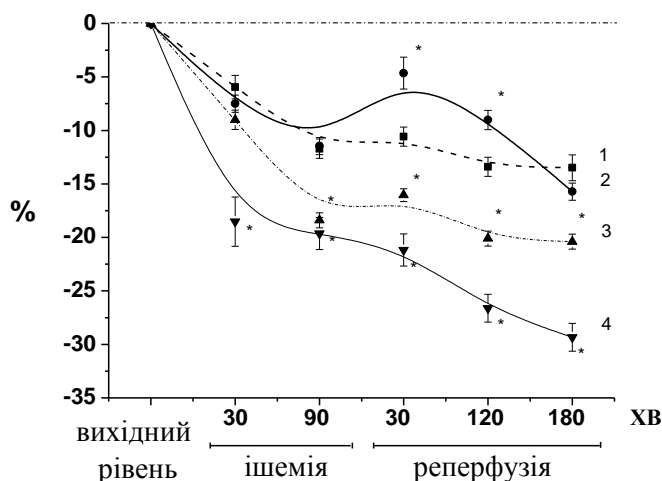


Рис. 5.6 Зміна САТ (в %) у собак при ішемії-реперфузії міокарда за різного рівня активації SUR-рецепторів: 1 – контроль (ішемія-реперфузія), 2-4 – помірний, середній та потужний рівень активації SUR-рецепторів відповідно; * $P < 0,05$ порівняно зі значеннями при ішемії-реперфузії

Особливу увагу слід звернути на позитивний вплив на підтримання нормальної функції серця при ішемії-реперфузії помірної активації цих рецепторів. Яка практично повністю запобігає зниженню тиску у порожнині лівого шлуночка, зменшенню швидкості скорочення (dP/dt_{\max}) – як під час ішемії, так і під час реперфузії, та розслаблення (dP/dt_{\min}) лівого шлуночка під час ішемії. А деколи навіть дещо підвищує ці показники (див. рис. 5.7, 5.8 та табл. 5.3, 5.5).

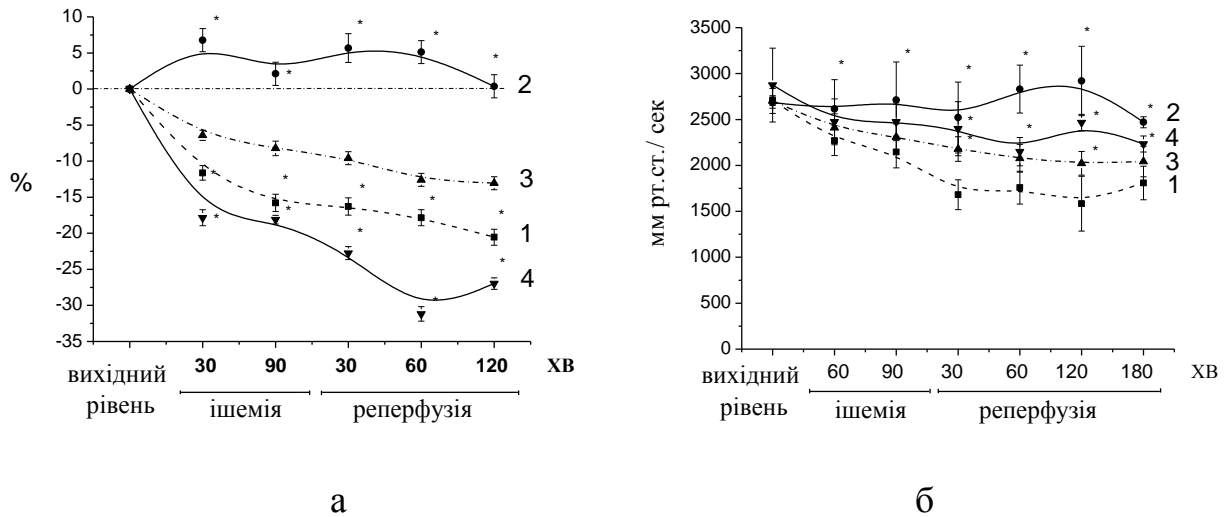


Рис. 5.7 Залежність систолічного тиску (в %) в порожнині лівого шлуночка (а) та його швидкості скорочення (dP/dt_{\max}) у анестезованих собак при ішемії-реперфузії міокарда від рівня активації SUR-рецепторів: 1 – контроль (ішемія-реперфузія), 2-4 – помірний, середній та потужний рівень активації SUR-рецепторів відповідно; * $P < 0,05$ порівняно зі значеннями при ішемії-реперфузії

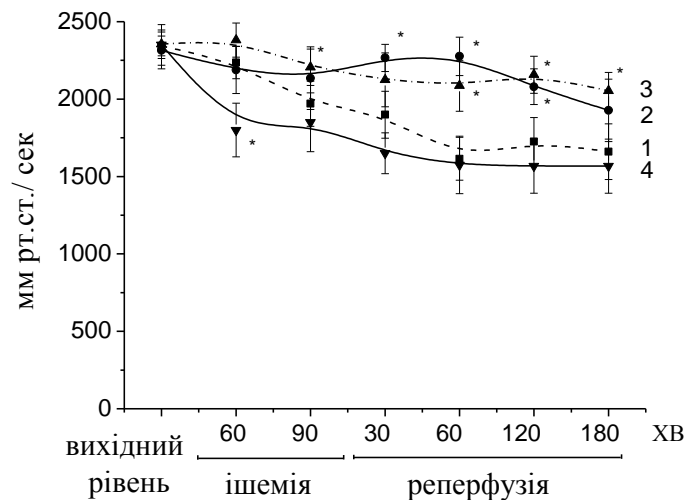


Рис. 5.8 Залежність швидкості розслаблення (dP/dt_{\min}) лівого шлуночка у собак при ішемії-реперфузії міокарда від рівня активації SUR-рецепторів: 1 – контроль (ішемія-реперфузія), 2-4 – помірний, середній та потужний рівень активації SUR-рецепторів відповідно; * $P < 0,05$ порівняно зі значеннями при ішемії-реперфузії

Водночас в контрольних експериментах (ішемія-реперфузія без стимуляції SUR) ці показники суттєво знижуються: ТЛШ та dP/dt_{\min} на кінець реперфузії відповідно на 22,8 та 29,1%, швидкість скорочення на 41,5% на 120 хв реперфузії,

з деяким відновленням до кінця реперфузії – зменшення dP/dt_{\max} становить 29,4% (див. рис. 5.7, 5.8 та табл. 5.5) [90, 92].

Позитивні ефекти на скоротливу функцію серця, порівняно з контрольними даними, спостерігаються і в експериментах при середньому ступені стимуляції SUR-рецепторів [92]. Ці кардіопротекторні ефекти не так чітко виражені як в дослідях з найменшим рівнем активації, проте теж є досить потужними (див. рис. 5.7, 5.8 та табл. 5.3, 5.5). Зокрема, позитивний вплив середнього рівня стимуляції SUR на швидкість розслаблення (dP/dt_{\min}) лівого шлуночка навіть перевершує кардіопротекторні ефекти помірної стимуляції цих рецепторів (за виключенням не великого (30-60 хв) періоду реперфузії). Водночас при найбільшій ступені активації SUR-рецепторів не спостерігалось позитивного ефекту на ТЛШ та dP/dt_{\min} (див. рис. 5.7 а, 5.8), проте попереджувалося значне зниження швидкості скорочення (dP/dt_{\max}) лівого шлуночка в кінці ішемії і під час реперфузії (див. рис. 5.7 б та табл. 5.3, 5.5).

За ішемії-реперфузії відбувалося прогресивне зниження ХОК, який на кінець ішемії зменшується на 26,3 %, а починаючи з другої години реперфузії майже на 40% (рис. 5.9 табл. 5.3 та 5.5).

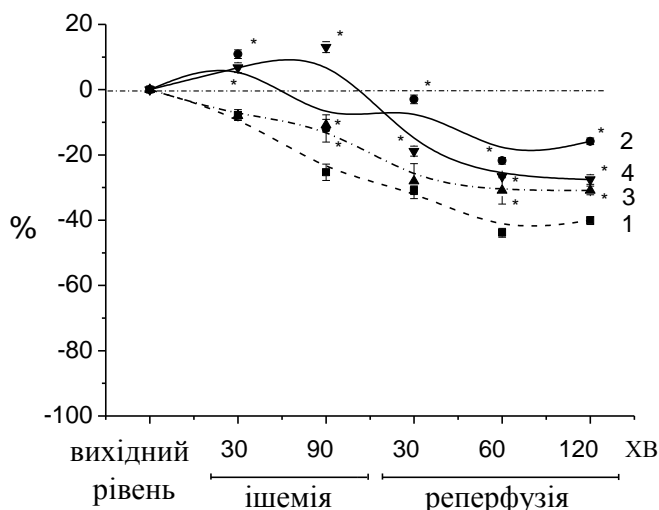


Рис. 5.9 Залежність ХОК (в %) у анестезованих собак при ішемії-реперфузії міокарда від рівня активації SUR-рецепторів: 1 – контроль (ішемія-реперфузія), 2-4 – помірний, середній та потужний рівень активації SUR-рецепторів відповідно; * $P < 0,05$ порівняно зі значеннями при ішемії-реперфузії

В експериментах з помірним та потужним рівнем стимуляції SUR ХОК протягом експерименту є більшим ніж в контролі (див. рис. 5.9, табл. 5.3 та 5.5), а в певні відрізки ішемії навіть перевищує показники вихідного рівня. Зокрема, при помірній активації на 10-ту хвилину ішемії він вищий за вихідне значення майже на 11%, а за потужної – на 10-ту та 60-ту хвилину ішемії майже на 7 та 13% відповідно [90, 92].

Слід зауважити, що в контрольних експериментах під час реперфузії ішемізованого серця значно зростає такий важливий показник як ЗПО судин. Зокрема, на кінець реперфузії він збільшується майже на 53% (див. рис. 5.4, табл. 5.5). Водночас відкривання вищезазначених рецепторів значною мірою запобігає цьому зростанню, що зменшує навантаження на ішемізоване серце і таким чином, запобігає більш глобальним пошкодженням міокарда під час реперфузії.

Таким чином, найбільш оптимальні кардіопротекторні ефекти по показникам кардіогемодинаміки за експериментальної ішемії-реперфузії міокарда виявляються при помірному рівні активації SUR-рецепторів K_{ATP} -каналів. А саме: розширення коронарних судин при ішемії та попередження їх констрикції констрикції та підвищення ЗПО при реперфузії, підтримання нормальної скоротливої функції серця – практично повністю попереджувалося зниження ТЛШ, зменшення швидкості скорочення як під час ішемії, так і під час реперфузії, та швидкості розслаблення лівого шлуночка під час ішемії. Водночас при потужній активації SUR-рецепторів відбувалося суттєве зниження САТ та скоротливої активності міокарда [90, 92].

Підрозділ 5.3. Зміни біохімічних показників плазми крові при різному ступені активації SUR-рецепторів при ішемії-реперфузії міокарда

Залежність змін біохімічних показників у плазмі крові собак за експериментальної гострої ішемії-реперфузії міокарда при помірній (n=6), середній (n=7) та потужній (n=5) активації SUR-рецепторів представлено в

таблицях 5.6 - 5.14. В якості контрольних дослідів (n=7) представлені біохімічні показники у плазмі крові за ішемії-реперфузії без активації цих рецепторів.

Таблиця 5.6

Зміна активності ферменту cNOS у плазмі крові собак у часі при ішемії-реперфузії міокарда від рівня активації SUR-рецепторів, (M±m).

Умови дослідів	Час (хв)	Активність cNOS, пмоль/хв. мг білка			
		Ішемія-реперфузія	Активация SUR + ішемія-реперфузія		
			помірна	середня	потужна
Вихідне значення	0	5,78 ± 0,42	5,89 ± 1,46	5,32 ± 0,38	5,96 ± 0,66
Активация SUR	30		5,98 ± 2,2	8,69 ± 1,02	6,40 ± 0,98
	60		6,11 ± 2,29	8,95 ± 1,27	7,62 ± 1,12
ішемія	10	2,76 ± 0,34*	5,07 ± 1,61**	9,22 ± 1,48**	7,51 ± 0,80
	60	3,23 ± 0,49*			7,07 ± 0,95
	90	2,01 ± 0,40*	4,86 ± 1,52**	7,69 ± 1,18**	5,90 ± 0,78
реперфузія	10	3,74 ± 0,69*	3,66 ± 1,52	6,15 ± 0,87**	4,90 ± 0,50
	60	4,45 ± 0,75	3,74 ± 0,42*	7,46 ± 0,95**	5,40 ± 0,66
	90	5,06 ± 0,85			5,62 ± 0,72
	120	5,36 ± 0,79	5,29 ± 2,74	8,51 ± 0,80**	6,87 ± 0,85
	180	5,35 ± 0,81	3,67 ± 2,59	10,92 ± 0,58**	9,54 ± 0,99*

Примітки: тут та в табл. 5.7 – 5.14:

1. Вихідне значення – умови нормоксії,
2. *P<0,05 по відношенню до вихідного рівня,
3. **P<0,05 порівняно з контролем

Як згадувалося вище (див. розділ 4), одним із важливих механізмів кардіопротекторної дії активації SUR-рецепторів K_{ATP}-каналів за ішемії-реперфузії є підтримання нормального рівня активності ферменту cNOS, яка за ішемії-реперфузії є пригніченою (табл. 5.6 та рис. 5.11). Саме NO синтезований цією ізоформою є фізіологічно важливим, на відміну від NO синтезованого iNOS.

Аналіз впливу різних рівнів стимуляції SUR на активність ферменту cNOS показує, що найбільший позитивний ефект щодо цього протекторного чинника має середня ступінь активації (рис. 5.10 та табл. 5.6). За якої активність цього ферменту за ішемії-реперфузії не лише не знижувалася, а навіть підвищувалася. Дещо менші протекторні ефекти відбуваються при підвищенні стимуляції SUR. Водночас при помірній стимуляції – підвищення активності ферменту cNOS не спостерігалось. Проте у всіх експериментах з активацією SUR-рецепторів відбувалося попередження зниження активності цього важливого ферменту при ішемії-реперфузії міокарда (див. рис. 5.10 та табл. 5.6) [90, 92].

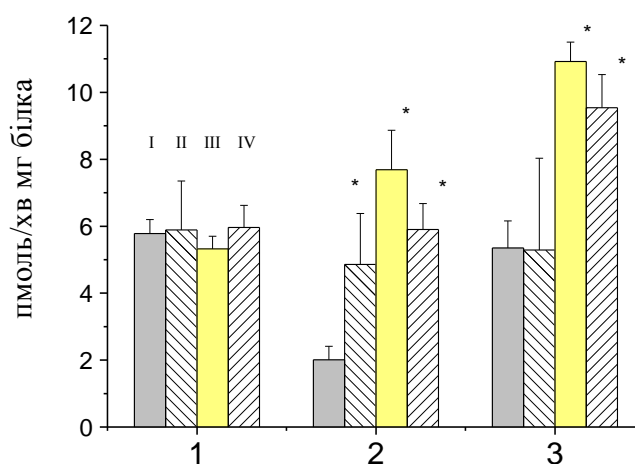


Рис. 5.10 Зміна активності ферменту конститутивної NO-синтази у плазмі крові собак при ішемії-реперфузії міокарда у контролі (I) та при помірній (II), середній (III) та потужній (IV) активації SUR-рецепторів: 1 – вихідне значення; 2 – 90 хв ішемії; 3 – 180-та хв реперфузії. * $P < 0,05$ порівняно зі значеннями в контролі.

Аналіз залежності активності ферменту iNOS (рис. 5.11 та табл. 5.7) від рівня активації SUR-рецепторів виявив пригнічення зростання активності ферменту як за ішемії, так і за реперфузії, і таким чином, попередження можливого утворення високо-токсичного пероксинітриту.

Одним із основних показників антиішемічної дії стимуляції SUR-рецепторів є вміст пулів нітрит-аніона, який утворюється при спонтанному окисненні NO в оксигенованих розчинах. Аналіз отриманих даних свідчить, що найбільший

позитивний ефект щодо цього протекторного чинника має середня ступінь активації цих рецепторів (рис. 5.12 а та табл. 5.8). Слід зауважити, що на відміну від контрольних експериментів, де за ішемії-реперфузії міокарда відбувається значне зниження вмісту нітрит-аніона, у всіх експериментах з активацією SUR-рецепторів відбувалося його підвищення (див. рис. 5.12 а та табл. 5.8).

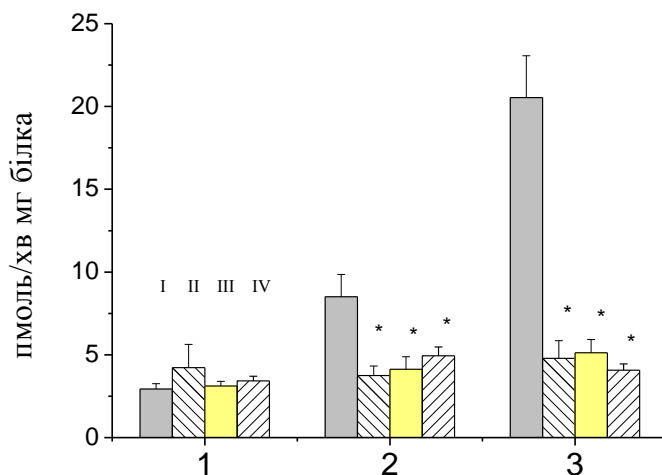


Рис. 5.11 Зміна активності ферменту індукцйбельної NO-синтази у плазмі крові собак при ішемії-реперфузії міокарда у контролі (I) та при помірній (II), середній (III) та потужній (IV) активації SUR-рецепторів: 1 – вихідне значення; 2 – 90 хв ішемії; 3 – 180 хв реперфузії. *P<0,05 порівняно зі значеннями в контролі.

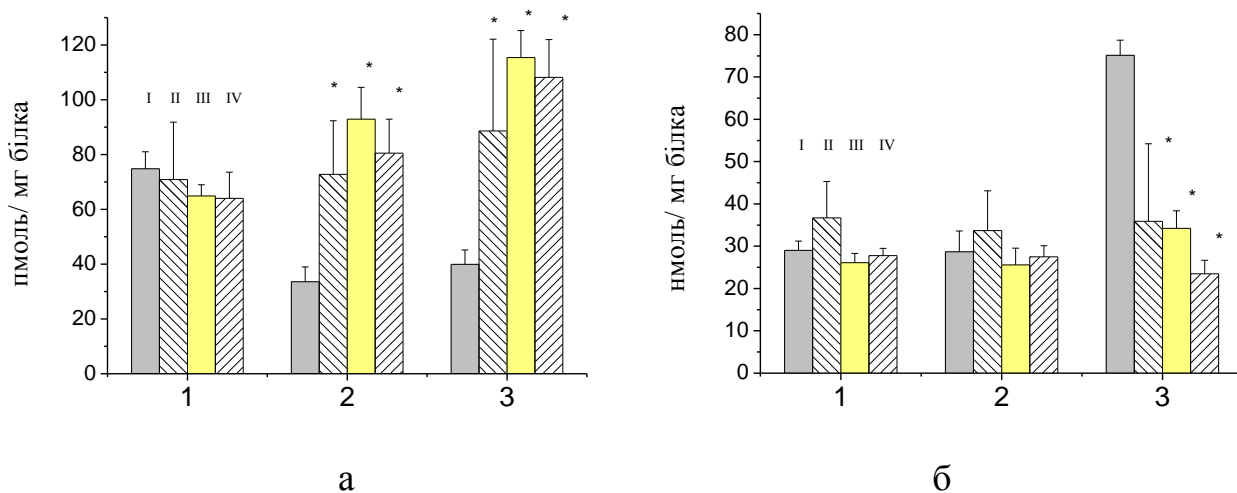


Рис. 5.12 Зміна вмісту пулів нітрит-аніона (а) та нітрат-аніона (б) у плазмі крові собак при ішемії-реперфузії міокарда у контролі (I) та при помірній (II), середній (III) та потужній (IV) активації SUR-рецепторів: 1 – вихідне значення; 2 – 90 хв ішемії; 3 – 180 хв реперфузії. *P<0,05 порівняно зі значеннями в контролі.

Таблиця 5.7

Залежність змін активності ферменту iNOS у плазмі крові собак у часі при ішемії-реперфузії міокарда від рівня активації SUR-рецепторів, (M±m).

Умови досліджу	Час (хв)	Активність iNOS, пмоль/хв мг білка			
		Ішемія-реперфузія	Активація SUR + ішемія-реперфузія		
			помірна	середня	потужна
Вихідне значення	0	2,94 ± 0,31	4,22 ± 1,41	3,12 ± 0,27	3,42 ± 0,29
Активація SUR	30		3,14 ± 0,73	3,23 ± 0,35	3,23 ± 0,36
	60		4,99 ± 2,90	3,19 ± 0,47	2,61 ± 0,47
Ішемія	10	7,34 ± 0,89*	3,86 ± 0,91**	3,46 ± 0,50**	3,25 ± 0,46
	60	7,83 ± 1,13*			3,32 ± 0,50
	90	8,50 ± 1,35*	3,75 ± 0,58**	4,12 ± 0,77**	4,94 ± 0,53*/**
Реперфузія	10	11,51 ± 1,74*	3,93 ± 1,21**	3,81 ± 0,69**	2,89 ± 0,47
	60	12,87 ± 1,95*	4,77 ± 0,7**	4,95 ± 0,54**	3,22 ± 0,42
	90	14,14 ± 1,70*			3,62 ± 0,57
	120	20,54 ± 2,52*	4,78 ± 1,08**	5,12 ± 0,80**	4,07 ± 0,38**
	180	21,92 ± 3,14*	6,19 ± 3,09**	4,87 ± 0,69**	4,38 ± 0,71**

Таблиця 5.8

Зміни вмісту пулів нітрит-аніона у плазмі крові собак у часі при ішемії-реперфузії міокарда від рівня активації SUR-рецепторів, (M±m).

Умови досліджу	Час (хв)	NO ₂ ⁻ , пмоль/ мг білка			
		Ішемія-реперфузія	Активація SUR + ішемія-реперфузія		
			помірна	середня	потужна
Вихідне значення	0	74,8 ± 6,2	70,9 ± 20,9	64,9 ± 4,07	64,0 ± 9,6
Активація SUR	30		67,6 ± 31,9	49,8 ± 6,12*	53,6 ± 7,2
	60		73,1 ± 24,2	71,6 ± 9,42	85,5 ± 9,4
Ішемія	10	47,6 ± 4,9	74,9 ± 12,8	59,7 ± 8,71	55,9 ± 8,1
	60	40,6 ± 3,6			84,3 ± 12,5**
	90	33,6 ± 5,4*	72,8 ± 19,5	92,9 ± 11,65*/**	80,5 ± 12,4**
Реперфузія	10	51,8 ± 9,2	58,1 ± 18,7	111,5 ± 17,42*/**	98,1 ± 12,9
	60	34,4 ± 4,4*	60,9 ± 17,4	128,2 ± 14,19*/**	90,9 ± 12,6**
	90	47,5 ± 5,0			101,2 ± 17,2**
	120	39,9 ± 5,3*	88,6 ± 33,5	115,4 ± 9,84*/**	108,2 ± 13,8**
	180	34,5 ± 4,7*	70,1 ± 9,3**	98,7 ± 10,07*/**	106,4 ± 11,5**

Аналіз змін вмісту у плазмі крові пулів нітрат-аніона за ішемії-реперфузії міокарда виявив його достовірне підвищення в кінці реперфузії, що може свідчити про збільшення утворення пероксинітриту при взаємодії NO з супероксидрадикалом. Активація SUR практично повністю попереджувала це збільшення та, вірогідно, генерацію пероксинітриту (рис. 5.12 б, табл. 5.9).

Таблиця 5.9

Зміни вмісту пулів нітрат-аніона у плазмі крові собак у часі при ішемії-реперфузії міокарда від рівня активації SUR-рецепторів, ($M \pm m$).

Умови досліджу	Час (хв)	NO ₃ ⁻ , нмоль/ мг білка			
		Ішемія-реперфузія	Активація SUR + ішемія-реперфузія		
			помірна	середня	потужна
Вихідне значення	0	29,03 ± 2,2	36,7 ± 8,6	26,1 ± 2,19	27,8 ± 1,7
Активація SUR	30		29,9 ± 10,2	24,2 ± 3,08	27,1 ± 2,2
	60		34,1 ± 10,0	27,5 ± 3,41	30,4 ± 4,9
Ішемія	10	24,5 ± 3,6	33,9 ± 15,1	31,4 ± 4,88	39,9 ± 4,8
	60	25,7 ± 1,8			32,2 ± 2,4
	90	28,7 ± 4,9	33,7 ± 9,4	25,6 ± 3,95	27,5 ± 2,6
Реперфузія	10	31,3 ± 2,5	35,3 ± 9,5	23,2 ± 3,16	30,4 ± 4,6
	60	29,6 ± 4,0	35,1 ± 13,1	28,7 ± 3,50	40,1 ± 5,9*
	90	33,2 ± 5,8			35,6 ± 5,0
	120	33,4 ± 4,9	41,6 ± 14,4	33,9 ± 4,77	25,3 ± 3,8
	180	75,1 ± 3,6*	35,9 ± 18,3	34,2 ± 4,19**	23,5 ± 3,2**

В табл. 5.10 представлено вплив стимуляції SUR-рецепторів різної сили на вміст у плазмі крові пулів вільної арахідонової кислоти, які утворюються при активації кальцієм фосфоліпази A₂ за ішемії-реперфузії. В усіх експериментах активація SUR-рецепторів K_{ATФ}-каналів запобігала значному підвищенню рівня вільної арахідонової кислоти за умов ішемії-реперфузії (рис. 5.13, табл. 5.10). Що може свідчити про можливе зменшення активності фосфоліпази A₂ та, відповідно, про мембраностабілізуючу дію активації цих каналів. Проте при потужній активації SUR спостерігається менш виражені кардіопротекторні ефекти. Отже,

найбільший мембраностабілізуючий ефект відбувається за незначної стимуляції цих рецепторів [90, 92].

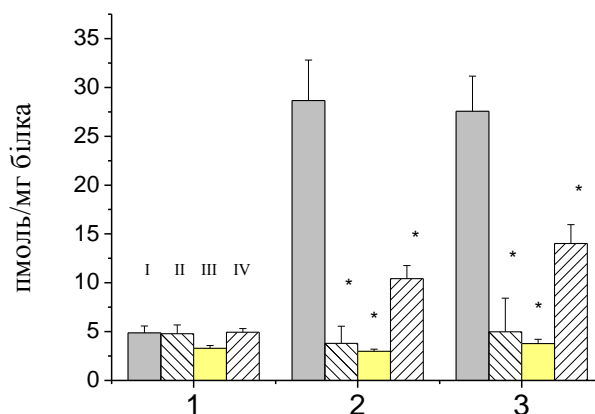


Рис. 5.13 Зміна вмісту пулів вільної арахідонової кислоти у плазмі крові собак при ішемії-реперфузії міокарда у контролі (I) та при помірній (II), середній (III) та потужній (IV) активації SUR-рецепторів: 1 – вихідне значення; 2 – 90 хв ішемії; 3 – 180 хв реперфузії. *P<0,05 порівняно зі значеннями в контролі.

Таблиця 5.10

Зміни вмісту пулів арахідонової кислоти у плазмі крові собак у часі при ішемії-реперфузії міокарда від рівня активації SUR-рецепторів, (M±m).

Умови досліджу	Час (хв)	арахідонова кислота, пмоль/ мг білка			
		Ішемія-реперфузія	Активация SUR + ішемія-реперфузія		
			помірна	середня	потужна
Вихідне значення	0	4,87 ± 0,71	4,79± 0,89	3,30 ± 0,27	4,93 ± 0,39
Активация SUR	30		2,66± 1,25	2,78 ± 0,3	4,64 ± 0, 54
	60		3,89 ± 0,69	2,30 ± 0,38*	3,51 ± 0,60*
Ішемія	10	23,54 ± 2,85*	3,46 ± 2,14**	2,35 ± 0,19**	8,68 ± 1,24*/**
	60	25,62± 3,94*			8,83 ± 1,52*/**
	90	28,65± 4,15*	3,79 ± 1,76**	2,98 ± 0,22**	10,42 ±1,34*/**
Реперфузія	10	30,91 ± 4,6*	5,51± 3,77**	3,99 ± 0,30**	16,91 ± 2,65*/**
	60	27,55± 3,61*	4,98 ± 3,45**	3,77 ± 0,45**	14,03 ± 1,92*/**
	90	22,57± 1,95*			11,03 ± 1,09*/**
	120	18,82± 3,10*	6,12 ± 3,96**	4,98 ± 0,39**	9,75 ± 1,48*/**
	180	17,28± 2,48*	5,7 ± 2,89**	3,95 ± 0,29**	8,09 ± 1,5*/**

За стимуляції SUR-рецепторів пригнічується не лише утворення вільної арахідонової кислоти, але і її ферментативне окиснення, про що може свідчити зменшення вмісту в плазмі крові патогенних за умов ішемії LTC₄ та TxV₂ (табл. 5.11 та 5.12), а отже, гальмування активності таких ферментів як ліпоксигеназа та циклооксигеназа, та зменшення генерації супероксиду, який утворюється паралельно з вищезгаданими ейкозаноїдами.

Таблиця 5.11

Залежність змін вмісту пулів LTC₄ у плазмі крові собак у часі за ішемії-реперфузії міокарда від рівня активації SUR-рецепторів, (M±m).

Умови досліджу	Час (хв)	LTC ₄ , пмоль/ мг білка			
		Ішемія-реперфузія	Активация SUR + ішемія-реперфузія		
			помірна	середня	потужна
Вихідне значення	0	0,30 ± 0,02	0,71 ± 0,15	0,49 ± 0,03	0,40 ± 0,03
Активация SUR	30		0,47 ± 0,09	0,59 ± 0,05	0,38 ± 0,05
	60		0,35 ± 0,18*	0,64 ± 0,07	0,33 ± 0,05
Ішемія	10	1,11 ± 0,08*	0,45 ± 0,08**	0,48 ± 0,07**	0,53 ± 0,08
	60	1,67 ± 0,15*			0,73 ± 0,07*
	90	1,92 ± 0,17*	0,49 ± 0,11**	0,50 ± 0,09**	0,79 ± 0,10*/**
Реперфузія	10	1,07 ± 0,9*	0,50 ± 0,11**	0,68 ± 0,04*/**	0,81 ± 0,11*/**
	60	0,95 ± 0,16*	0,57 ± 0,04**	0,57 ± 0,06**	0,73 ± 0,10*
	90	1,12 ± 0,15*			0,82 ± 0,14*/**
	120	0,84 ± 0,12*	0,72 ± 0,24	0,39 ± 0,05**	0,74 ± 0,13*/**
	180	1,02 ± 0,12*	0,49 ± 0,31**	0,41 ± 0,07**	0,73 ± 0,08*/**

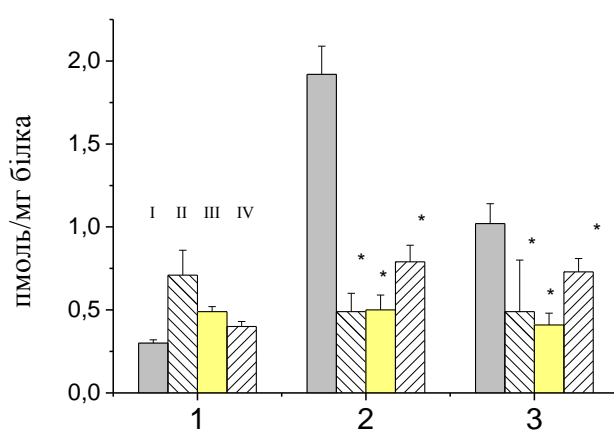
Зміни вмісту у плазмі крові пулів LTC₄ та TxV₂ свідчать, що у всіх експериментах з активацією SUR-рецепторів відбувалося попередження значного підвищення їх вмісту за ішемії-реперфузії міокарда (табл. 5.11 та 5.12, рис. 5.14). Натомість, при середній (дещо знижене зменшення вмісту TxV₂ за ішемії) та найбільшій дозі спостерігається менш виражені кардіопротекторні ефекти. Отже,

найбільший кардіопротекторний ефект за цими чинниками відбувається при помірному рівні активації SUR-рецепторів K_{ATP} -каналів [90, 92].

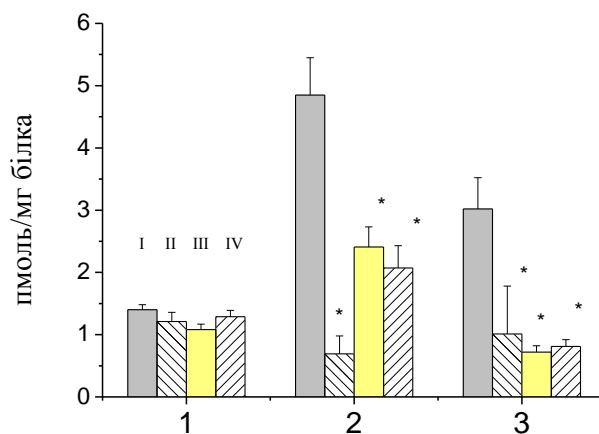
Таблиця 5.12

Залежність зміни вмісту пулів TxB_2 у плазмі крові собак у часі за ішемії-реперфузії міокарда від рівня активації SUR-рецепторів, ($M \pm m$).

Умови досліджу	Час (хв)	TxB_2 , пмоль/ мг білка			
		Ішемія-реперфузія	Активация SUR + ішемія-реперфузія		
			помірна	середня	потужна
Вихідне значення	0	$1,40 \pm 0,08$	$1,21 \pm 0,15$	$1,08 \pm 0,09$	$1,29 \pm 0,10$
Активация SUR	30		$0,74 \pm 0,35$	$1,22 \pm 0,11$	$1,12 \pm 0,09$
	60		$0,86 \pm 0,19$	$1,21 \pm 0,14$	$0,80 \pm 0,12^*$
Ішемія	10	$3,33 \pm 0,22^*$	$0,97 \pm 0,36^{**}$	$1,72 \pm 0,21^{*/**}$	$1,31 \pm 0,07^{*/**}$
	60	$4,13 \pm 0,31^*$			$1,51 \pm 0,24^{**}$
	90	$4,85 \pm 0,60^*$	$0,69 \pm 0,29^{**}$	$2,41 \pm 0,32^{*/**}$	$2,07 \pm 0,36^{*/**}$
Реперфузія	10	$4,03 \pm 0,54^*$	$1,34 \pm 0,71^{**}$	$1,44 \pm 0,17^{**}$	$1,03 \pm 0,14^{**}$
	60	$4,39 \pm 0,62^*$	$0,91 \pm 0,49^{**}$	$1,49 \pm 0,19^{**}$	$1,77 \pm 0,26^{**}$
	90	$6,59 \pm 0,75^*$			$2,06 \pm 0,37^{*/**}$
	120	$3,35 \pm 0,43^*$	$1,01 \pm 0,77^{**}$	$1,02 \pm 0,13^{**}$	$1,04 \pm 0,14^{**}$
	180	$3,02 \pm 0,50^*$	$1,37 \pm 1,02^{**}$	$0,72 \pm 0,10^{*/**}$	$0,81 \pm 0,11^{*/**}$



а



б

Рис. 5.14 Зміна вмісту пулів LTC_4 (а) та TxB_2 (б) у плазмі крові собак при ішемії-реперфузії міокарда у контролі (I) та при помірній (II), середній (III) та потужній (IV) активації SUR-рецепторів: 1 – вихідне значення; 2 – 90 хв ішемії; 3 – 180 хв реперфузії. * $P < 0,05$ порівняно зі значеннями в контролі

Зміни вмісту пулів ДК та H_2O_2 в плазмі крові собак при помірній, середній та потужній активації SUR-рецепторів за ішемії-реперфузії міокарда свідчать, що їх стимуляція попереджувала значне підвищення цих показників (табл. 5.13 - 5.14 та рис. 5.15). Проте при потужній активації SUR спостерігалися менш виражені кардіопротекторні ефекти. Отже, оптимальними для кардіопротекції за цими показниками є помірні та середні рівні активації згаданих рецепторів K_{ATP} -каналів.

Таблиця 5.13

Залежність зміни вмісту пулів дієнових кон'югатів у плазмі крові собак у часі за ішемії-реперфузії міокарда від рівня активації SUR-рецепторів, ($M \pm m$).

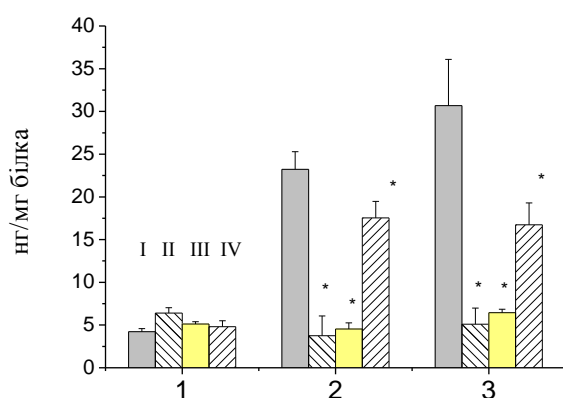
Умови досліджу	Час (хв)	Дієнові кон'югати, нг/мг білка			
		Ішемія-реперфузія	Активація SUR + ішемія-реперфузія		
			помірна	середня	потужна
Вихідне значення	0	4,23 ± 0,36	6,39 ± 0,63	5,11 ± 0,28	4,80 ± 0,7
Активація SUR	30		3,19 ± 0,62*	5,93 ± 0,47	4,35 ± 0,53
	60		5,56 ± 1,86	4,47 ± 0,62	4,15 ± 0,84
Ішемія	10	12,28 ± 1,18*	3,15 ± 1,21**	5,12 ± 0,95**	13,42 ± 1,89*
	60	22,695 ± 3,46*			16,95 ± 2,26*/**
	90	23,22 ± 2,08*	3,76 ± 2,31**	4,54 ± 0,71**	17,54 ± 1,94*/**
Реперфузія	10	31,37 ± 4,55*	4,41 ± 1,21**	5,91 ± 0,47**	17,86 ± 2,68*/**
	60	30,67 ± 5,42*	5,09 ± 1,89**	6,45 ± 0,39*/**	16,74 ± 2,55*/**
	90	28,73 ± 3,96*			14,95 ± 1,71*/**
	120	23,26 ± 4,18*	7,15 ± 0,74**	4,11 ± 0,70**	14,38 ± 1,64*/**
	180	22,46 ± 3,91*	7,68 ± 1,94**	4,15 ± 0,47**	9,55 ± 1,50*/**

Залежність утворення АФК від рівня активації SUR-рецепторів при ішемії-реперфузії міокарда визначали також за зміною H_2O_2 -індукованої хемілюмінесценції (ХЛ) плазми крові собак (табл. 5.15 та 5.16). Вимірювалися наступні кінетичні параметри ХЛ: загальна світлосума реакції за 5 хв ($\Sigma 5$), інтенсивність швидкого спалаху (I_0) та швидкість затухання ХЛ (I_5).

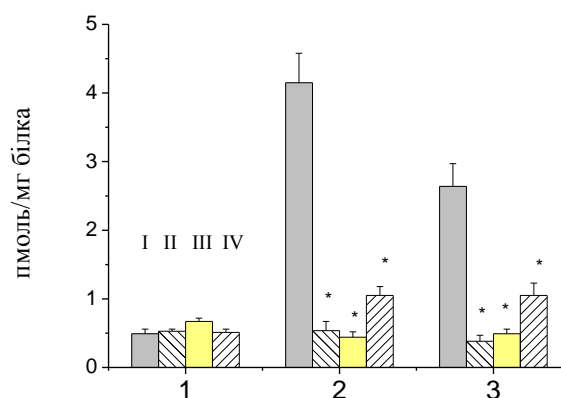
Таблиця 5.14

Залежність зміни вмісту пулів H_2O_2 в плазмі крові собак у часі за ішемії-реперфузії міокарда від рівня активації SUR-рецепторів, ($M \pm m$).

Умови досліджу	Час (хв)	H_2O_2 , пмоль/ мг білка			
		Ішемія-реперфузія	Активация SUR + ішемія-реперфузія		
			помірна	середня	потужна
Вихідне значення	0	$0,49 \pm 0,07$	$0,527 \pm 0,031$	$0,67 \pm 0,05$	$0,51 \pm 0,05$
Активация SUR	30		$0,425 \pm 0,183$	$0,53 \pm 0,07$	$0,44 \pm 0,11$
	60		$0,527 \pm 0,175$	$0,41 \pm 0,06^*$	$0,51 \pm 0,09$
Ішемія	10	$4,15 \pm 0,43^*$	$0,535 \pm 0,135^{**}$	$0,44 \pm 0,08^{**/**}$	$1,05 \pm 0,13^{**/**}$
	60	$5,76 \pm 1,29^*$			$1,66 \pm 0,19^{**/**}$
	90	$3,81 \pm 0,56^*$	$0,527 \pm 0,183^{**}$	$0,53 \pm 0,07^{**}$	$1,85 \pm 0,17^{**/**}$
Реперфузія	10	$3,72 \pm 0,44^*$	$0,35 \pm 0,087^{**}$	$0,77 \pm 0,11^{**}$	$1,96 \pm 0,15^{**/**}$
	60	$2,27 \pm 0,25^*$	$0,523 \pm 0,136^{**}$	$0,53 \pm 0,09^{**}$	$1,12 \pm 0,10^{**/**}$
	90	$2,00 \pm 0,15^*$			$1,03 \pm 0,09^{**/**}$
	120	$2,30 \pm 0,18^*$	$0,673 \pm 0,217^{**}$	$0,51 \pm 0,08^{**}$	$1,13 \pm 0,11^{**/**}$
	180	$2,64 \pm 0,33^*$	$0,383 \pm 0,087^{**}$	$0,49 \pm 0,07^{**/**}$	$1,05 \pm 0,18^{**/**}$



а



б

Рис. 5.15 Зміна вмісту дієнових кон'югатів(а) та пероксиду водню (б) у плазмі крові собак при ішемії-реперфузії міокарда у контролі (I) та при помірній (II), середній (III) та потужній (IV) активації SUR-рецепторів: 1 – вихідне значення; 2 – 10 хв ішемії; 3 – 180 хв реперфузії. * $P < 0,05$ порівняно зі значеннями в контролі

Таблиця 5.15

Вплив помірної стимуляції SUR-рецепторів на зміни хемілюмінесценції (у мВ/с) у плазмі крові собак за ішемії-реперфузії міокарда, ($M \pm m$)

Умови досліджу	Час (хв)	I ₀ амплітуда швидкого спалаху		Σ ₅ загальна світлосума за 5 хв		I ₅ кінцеве значення інтенсивності випромінення	
		I-P	SUR + I-P	I-P	SUR + I-P	I-P	SUR + I-P
Вихідне значення	0	110,25 ±12,4	92,5 ±7,5	25561,15 ±2232,8	22194,48 ±2418,04	67,28 ±6,1	71,0 ±5,0
Ішемія	10	149,28 ±8,7*	139,5 ±11,4*	28570,91 ±1531,6	33918,29 ±5522,46*	72,0 ±3,7	90,0 ±2,6
	90	188,33 ±15,3*	151,25 ±17,2*	48559,23 ±3324,5*	53347,40 ±2174,25*	77,14 ±6,7	92,33 ±9,4
Реперфузія	10	212,28 ±12,4*	200,00 ±11,4*	48361,75 ±1803,8*	42013,71 ±2601,21*/**	90,57 ±6,4*	92,2 ±7,2
	60	274,16 ±22,5*	223,5 ±8,5*	52570,18 ±2220,1*	48189,32 ±2201,7*	95,42 ±9,4*	92,5 ±3,5*
	120	378,5 ±29,1*	230,33 ±7,2*/**	59424,58 ±3583,23*	51191,33 ±3870,87*	101,83 ±5,5*	84,5 ±8,5
	180	398,83 ±19,1*	224,5 ±3,5*/**	59567,14 ±2475,8*	52475,26 ±2270,28*/**	125,14 ±7,1*	84,0 ±5,5**

Примітки: тут та в табл. 5.16:

1. I-P – ішемія-реперфузія,
2. *P<0,05 по відношенню до значень вихідного рівня,
3. **P<0,05 порівняно зі значеннями контролю (ішемія-реперфузія без стимуляції SUR-рецепторів).

В контрольних експериментах спостерігалось значне зростання ХЛ за усіма кінетичними показниками (табл. 5.15 та 5.16). Стимуляції SUR-рецепторів зменшувала ці показники у плазмі крові собак під час реперфузії ішемізованого міокарда. Зокрема, за помірної активації на 10-й та 120-й хвилині реперфузії показник Σ₅ був меншим на 13,12 (P<0,05) та 13,85 % (P<0,05) відповідно порівняно зі значеннями при ішемії-реперфузії без активації цих рецепторів (рис.

5.16 а). Амплітуда швидкого спалаху впродовж реперфузії на фоні активації поступово зменшувалася в порівнянні контролю, що свідчило про пригнічення інтенсивності вільнорадикальних реакцій. Так на 60-й, 120-й та 180-й хвилини реперфузії інтенсивність ХЛ була меншою відповідно на 18,47, 39,15 ($P<0,05$) та 43,71 % ($P<0,05$) в порівнянні з контролем (рис. 5.16 б). Показник кінцевого значення інтенсивності випромінювання I_5 при помірній активації SUR починаючи з 120-тої хвилини реперфузії знижується порівняно з контрольними даними за ішемії-реперфузії без їх стимулювання на 17,02 % та під кінець останньої досягає зменшення на 32,88% ($P<0,05$), (див. рис. 5.17).

Таблиця 5.16

Вплив стимуляції SUR-рецепторів середньої сили на зміни хемілюмінесценції (у мВ/с) в плазмі крові за ішемії-реперфузії міокарда, ($M \pm m$)

Умови досліджу	Час (хв)	I_0 амплітуда швидкого спалаху		$\Sigma 5$ загальна світлосума за 5 хв		I_5 кінцеве значення інтенсивності випромінювання	
		I-P	SUR + I-P	I-P	SUR + I-P	I-P	SUR + I-P
Вихідне значення	0	110,25 $\pm 12,4$	110,83 $\pm 16,8$	25561,15 $\pm 2232,8$	25126,39 $\pm 1579,54$	67,28 $\pm 6,1$	63,16 $\pm 4,7$
Ішемія	10	149,28 $\pm 8,7^*$	175,5 $\pm 20,1^*$	28570,91 $\pm 1531,6$	39973,13 $\pm 4085,6^{**/**}$	72,0 $\pm 3,7$	72,66 $\pm 3,5^*$
	90	188,33 $\pm 15,3^*$	183,75 $\pm 31,9^*$	48559,23 $\pm 3324,5^*$	45891,25 $\pm 4044,3^*$	77,14 $\pm 6,7$	80,0 $\pm 6,2^*$
Реперфузія	10	212,28 $\pm 12,4^*$	209,66 $\pm 4,17^*$	48361,75 $\pm 1803,8^*$	46045,00 $\pm 2970,17^*$	90,57 $\pm 6,4^*$	75,66 $\pm 10,5$
	60	274,16 $\pm 22,5^*$	202,5 $\pm 14,9^{**/**}$	52570,18 $\pm 2220,1^*$	47453,4 $\pm 4660,9^*$	95,42 $\pm 9,4^*$	86,0 $\pm 7,8^*$
	120	378,5 $\pm 29,1^*$	281,0 $\pm 9,0^{**/**}$	59424,58 $\pm 3583,23^*$	48996,95 $\pm 1979,5^{**/**}$	101,83 $\pm 5,5^*$	92,66 $\pm 5,4^*$
	180	398,83 $\pm 19,1^*$	278,66 $\pm 30,9^{**/**}$	59567,14 $\pm 2475,8^*$	49602,27 $\pm 1234,0^{**/**}$	125,14 $\pm 7,1^*$	91,0 $\pm 5,3^{**/**}$

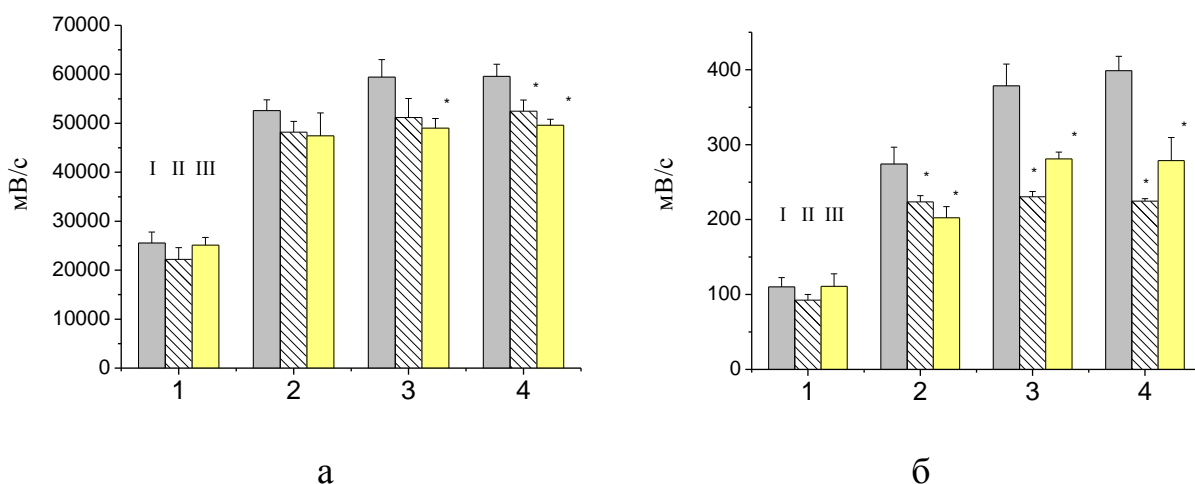


Рис. 5.16 Загальна світлосума хемілюмінесценції (а) та інтенсивність випромінювання хемілюмінесценції (амплітуда швидкого спалаху) (б) плазми крові собаки під час реперфузії ішемізованого серця в контролі (I) та при помірній (II), та середньої сили (III) активації SUR-рецепторів: 1 – вихідне значення (нормоксія); 2 - 4 – 60-й, 120-й та 180-й хвилини реперфузії; * $P < 0,05$ порівняно зі значеннями в контролі

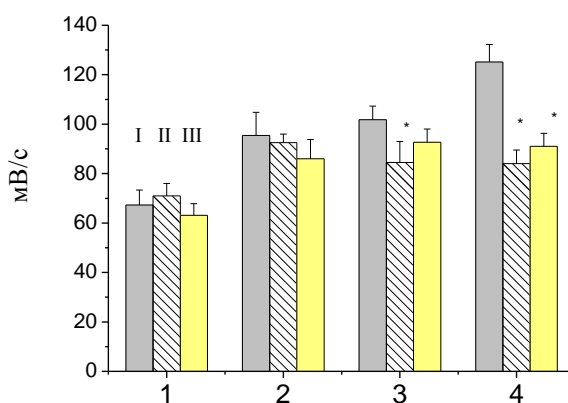


Рис. 5.17 Інтенсивність випромінювання хемілюмінесценції через 5хв (кінцеве значення випромінювання) плазми крові собаки під час реперфузії ішемізованого серця в контролі (I), при помірній (II) та середній (III) активації SUR-рецепторів: 1 – вихідне значення (нормоксія); 2 - 4 – 60-й, 120-й та 180-й хвилини реперфузії; * $P < 0,05$ порівняно зі значеннями в контролі

При середньому рівні активації SUR K_{ATP} -каналів на фоні ішемії сумарна інтенсивність ХЛ залишалася майже такою, як у контрольних дослідженнях (див.

табл. 5.16). Проте у період реперфузії на 60-й, 120-й та 180-й хвилинах показник Σ_5 був меншим на 9,73, 17,55 ($P<0,05$) та 16,73 % ($P<0,05$) відповідно в порівнянні до значень при ішемії-реперфузії без активації SUR (рис. 5.16 а). Амплітуда швидкого спалаху теж зменшувалася порівнянно з контрольними значеннями впродовж реперфузії. А саме, на 60-й, 120-й та 180-й хвилинах була меншою на 26,14 ($P<0,05$), 25,76 ($P<0,05$) та 30,13 % ($P<0,05$) відповідно (рис. 5.16 б). Показник кінцевого значення інтенсивності випромінення I_5 при даному ступені активації цих каналів протягом реперфузії також є зниженими в порівнянні контролю та на 180-й хвилині сягає 27,28 % (рис. 5.17, табл. 5.16).

Ймовірно, що сумарна інтенсивність хемілюмінісценції знижувалася за рахунок інгібування прооксидантних механізмів активації перекисного окиснення ліпідів. Оскільки на характер кінетики ХЛ впливає співвідношення компонентів, які приймають участь у окиснювальному процесі, то на підставі цих даних можна припустити, що за умов активації цих каналів пригнічуються вільнорадикальні процеси та підсилюється антиоксидантна система організму. Порівняльний аналіз зниження показників ХЛ при ішемії-реперфузії міокарда за помірного та середнього рівня активації SUR-рецепторів калієвих каналів суттєвих відмінностей не виявив.

Таким чином, аналіз змін біохімічних показників плазми крові свідчить, що оптимальні кардіопротекторні ефекти при ішемії-реперфузії міокарда розвивалися при помірному та середньому рівні активації SUR. Отже, за показниками кардіогемодинаміки та біохімічних досліджень оптимальними для кардіопротекції слід вважати незначні рівні активації SUR-рецепторів K_{ATP} -каналів [90, 92].

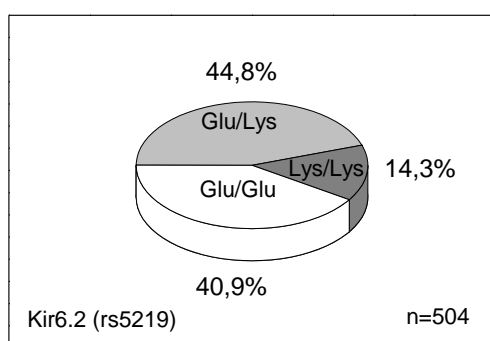
РОЗДІЛ 6

ПОШИРЕННЯ АЛЕЛЬНИХ ПОЛІМОРФІЗМІВ ГЕНІВ ABCC8 (SUR1) І KCNJ11 (KIR6.2) В УКРАЇНСЬКІЙ ПОПУЛЯЦІЇ ТА ЇХ МОЖЛИВА РОЛЬ ЯК ФАКТОРІВ РИЗИКУ ЗАХВОРЮВАНЬ СЕРЦЯ

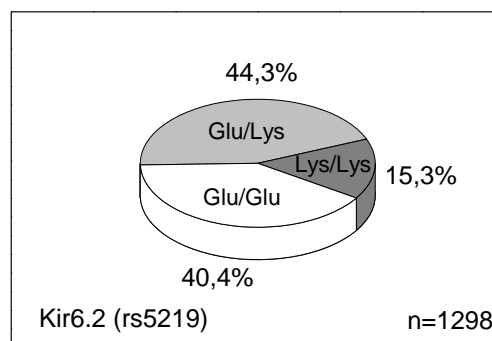
Найбільш сучасним методом фармакотерапії захворювань людини є фармакогенетичний метод, що дозволяє індивідуалізувати лікування певного хворого, дослідивши його генетичні особливості (алельний поліморфізм, SNPs). Як вже вище згадувалося, K_{ATP} -канали мають виняткову кардіопротекторну роль в ендогенному захисті серця при ішемічно-реперфузійних пошкодженнях міокарда, ішемічній хворобі серця та стенокардії, коронарних синдромах [208, 480, 503]. Попереджують ішемічні та реперфузійні порушення ритму, аритмії, індуковані порушенням процесів реполяризації, деполяризації та автоматії [248]. Зменшують зону інфаркту міокарда та попереджують серцеву недостатність [183, 557, 563]. Як виявилось, однонуклеотидні заміни (SNPs) в геномі можуть призвести до структурної перебудови Kir6.x чи SUR-рецепторів каналу і порушення їх взаємодії з сусідніми субодинамиціями, що утворюють каналний комплекс. Внаслідок чого може порушуватися функція каналу, зокрема його провідність та чутливість до різних лігандів (адениннуклеотидів, довголанцюгових ацил-СоА ефірів, протонів) та фармакологічних активаторів [441, 445, 464]. Патогенний алельний поліморфізм K_{ATP} -каналів може спричиняти захворювання з механічними та електричними вадами серця. Водночас відомо, що за варіанту 23Lys алельного поліморфізму Glu23Lys та варіанту 337Val поліморфізму Ile337Val гена KCNJ11 може збільшуватися провідність K_{ATP} -каналів, внаслідок зменшеної чутливості Kir6.2 субодинамиці до інгібуючої дії АТФ [192, 193, 464]. Визначення поширення цих алельних поліморфізмів (Ile337Val та Glu23Lys) та поліморфізму Ser1369Ala гена ABCC8 (кодує SUR1-рецептор міто- K_{ATP} -канала) серед населення України, а також генотипування хворих на інфаркт міокарда та серцеву недостатність було метою даної частини роботи.

6.1. Поширення алельних поліморфізмів **Pe337Val**, **Glu23Lys** та **Ser1369Ala** в українській популяції

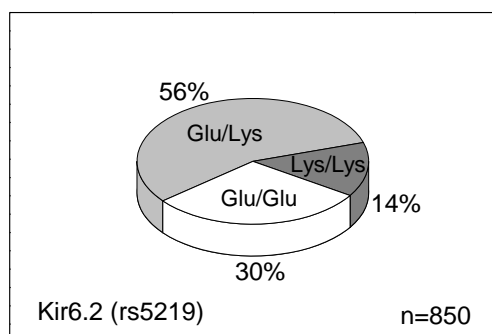
Визначення алельного поліморфізму **Glu23Lys** гена **KCNJ11** у 504 українців виявив такий розподіл по алелям: **Glu/Glu**, **Glu/Lys** та **Lys/Lys** у 206, 226, 72 людей відповідно [95]. Таке поширення поліморфізму відповідає закону Харді-Вайнберга та є подібним до європейської популяції [389]. Зокрема, **Glu/Glu** зустрічається у 40,87, **Glu/Lys** – 44,84, **Lys/Lys** – 14,29 % людей з України порівняно зі 40,4, 44,3 і 15,3 % відповідно у Європі (рис. 6.1). Розподіл алельного поліморфізму у азійській популяції дещо відрізняється від європейської та української (див. рис. 6.1). А саме, спостерігається зменшення носіїв генотипу по мажорній гомозиготі (**Glu/Glu**) до 30 %, натомість більше до 56 % носіїв гетерозигот (**Glu/Lys**) [389].



а



б



в

Рис. 6.1 Поширення алельного поліморфізму **Glu23Lys** гена **KCNJ11** в українській (а), в європейській (б) та центрально-азійській (в) популяціях.

Розподіл генотипів Ile/Ile, Ile/Val та Val/Val за поліморфізму Ile337Val в гені KCNJ11 у населення України становить 140 : 177 : 66 у 383 осіб відповідно та відповідає закону Харді-Вайнберга. Аналіз їх поширення дав змогу виявити, що у мешканців України дещо збільшеним є відсоток мінорних гомозигот за валіном (Val/Val) – 17,2 порівняно з 11,9, 12,5 та нулем у європейській, азійській та африканській (район Сахари) популяціях відповідно [95, 390] (рис. 6.2).

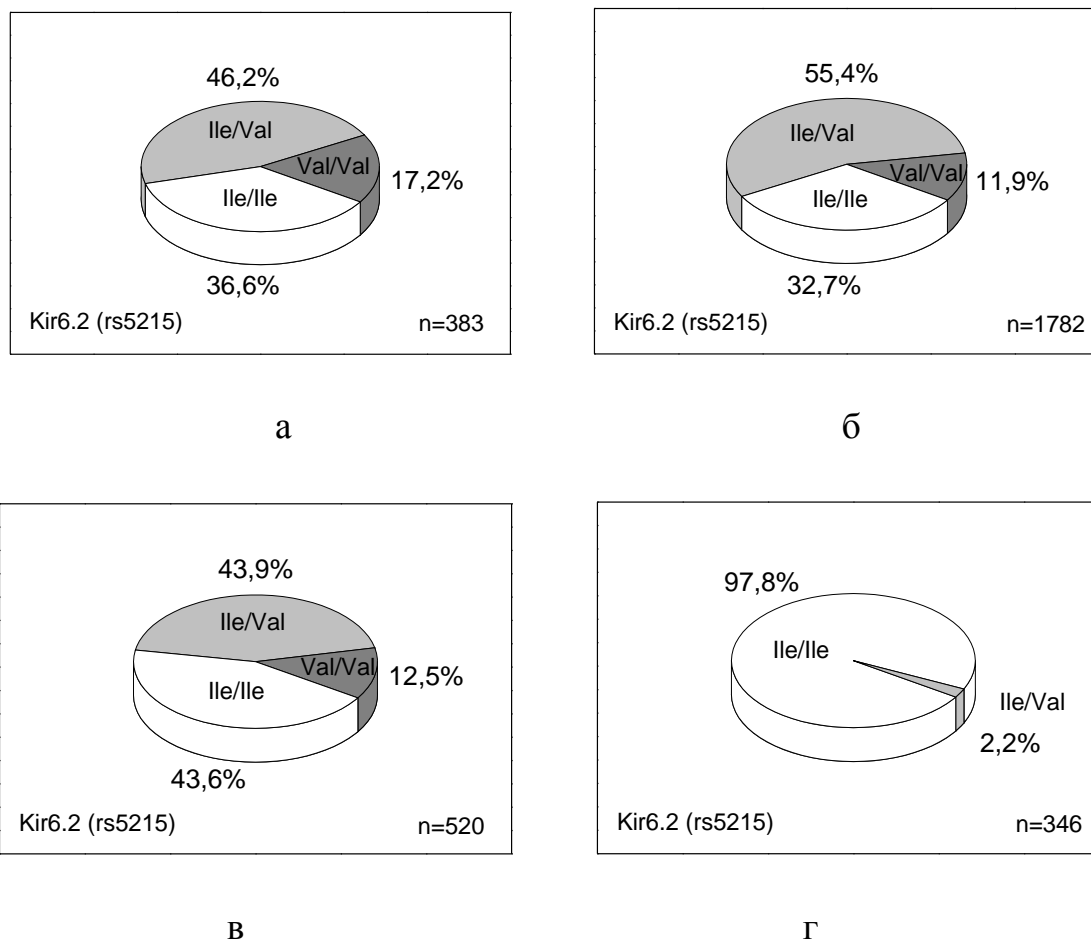


Рис. 6.2 Частота алельного поліморфізму Ile337Val гена KCNJ11 в українській (а), в європейській (б), азійській (в), та африканській (г) популяціях.

Кількість носіїв генотипу Ile/Ile та гетерозигот (Ile/Val) є проміжною між європейською та азійською популяціями, зі зміщенням перших до європейського, других до азійського варіанту. Якщо серед українців носіїв гомозигот за ізолейцином 36,6, то у європейців – 32,7, а у жителів Азії – 43,62 %.

Поширеність гетерозигот за цим поліморфізмом інший: в українців – 46,2, у європейців – 55,4, у азіатів – 43,88 % (див. рис. 6.2) [95, 390]. Водночас у африканців (район Сахари) поліморфізм Ile337Val гена KCNJ11 практично не зустрічається. Майже все населення за генотипом є носіями гомозигот за ізолейцином (Ile/Ile) – 97,8 % (див. рис. 6.2), та лише 2,2 % за цим поліморфізмом мають гетерозиготи Ile/Val. Варіантів Val/Val у них не зафіксовано [390].

Генетичні особливості гена ABCC8 (Ser1369Ala-поліморфізм), що кодує SUR1-рецептор K_{ATP} -каналу в українській, європейській, азійській та африканській популяціях представлені на рис. 6.3. Розподіл генотипів Ser/Ser, Ser/Ala та Ala/Ala за цим поліморфізмом в українській популяції був (як і у разі поліморфізму Glu23Lys гена KCNJ11) 206 : 226 : 72 відповідно та відповідав закону Харді-Вайнберга. Виявилося, що зміни алельного поліморфізму Glu23Lys (ген KCNJ11) та Ser1369Ala (ген ABCC8) є однотипними. Якщо в першому гені гомозигота за алелем Glu/Glu, то відповідно в іншому – Ser/Ser. Якщо в гені KCNJ11 гомозигота за алелем Lys/Lys, то відповідно в ABCC8 – Ala/Ala. Отже, спостерігається зчеплена спадковість цих поліморфізмів, вірогідно, внаслідок розміщення обох генів (KCNJ11 та ABCC8) поряд на 11p15.1 хромосомі людини [166, 288, 353, 391, 426, 516].

Розподіл алельних варіантів за поліморфізмом Ser1369Ala в українській популяції, як і у разі з Glu23Lys, також є близьким до такого у європейській та азійській популяціях. Генотипи Ser/Ser, Ser/Ala і Ala/Ala мають 40,87, 40,0, і 41,4 % (для першого), 44,84, 44,2 і 44,73 % (для другого) та 14,29, 15,8 і 13,87 % (для третього) мешканців України, Європи і Азії відповідно (див. рис. 6.3) [95, 353]. У жителів африканського континенту яких, як і у разі Ile337Val-поліморфізму гена KCNJ11 (див. рис. 6.2), поліморфізм Ser1369Ala гена ABCC8 практично не зустрічається (див. рис. 6.3) [391].

Таким чином, дослідження частоти алельних поліморфізмів Ile337Val та Glu23Lys гена KCNJ11 (кодує Kir6.2-субодиницю K_{ATP} -каналу) та поліморфізму Ser1369Ala гена ABCC8 (кодує SUR1-рецептор) мешканців України дало змогу визначити їх генетичні особливості.

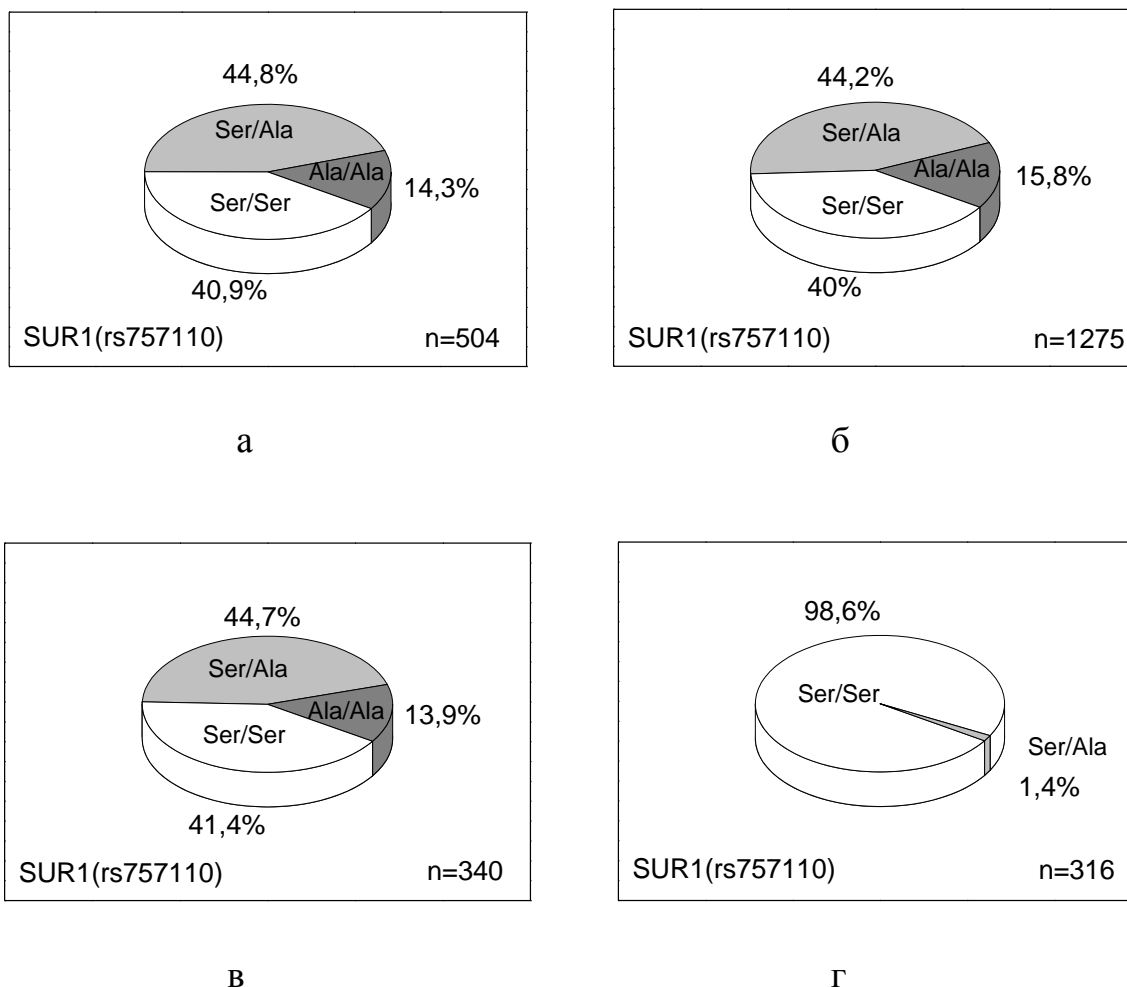


Рис. 6.3 Частота алельного поліморфізму Ser1369Ala гена ABCC8 в українській (а), в європейській (б), азійській (в) та африканській (г) популяціях.

Виявилося, що за поширенням поліморфізму Ser1369Ala генотип українців практично є подібним до мешканців у європейській та азійській популяціях. За поліморфізмом Glu23Lys він є близьким до першої та досить наближеним до останньої популяції. Частота генотипів Ile/Ile та Ile/Val за поліморфізмом Ile337Val є проміжною між мешканцями обох вищезгаданих популяцій. Осіб з генотипом Val/Val виявилося дещо більше (17,2 %), ніж в інших популяціях. Проте порівняно з населенням Африки, де практично повністю преобладають гомозиготи мажорного типу, розподіл частот алелей за цих поліморфізмів значно відрізняється. Показано, що спадковість алельних поліморфізмів Glu23Lys (ген KCNJ11) та Ser1369Ala (ген ABCC8) є зчепленою [95].

Підрозділ 6.2. Розподіл алельних варіантів генів KCNJ11 та ABCC8 у практично здорових людей, хворих на інфаркт міокарда та серцеву недостатність

Розподіл алельного поліморфізму Glu23Lys гена KCNJ11 та Ser1369Ala гена ABCC8, що кодують Kir6.2 та SUR1-рецептори K_{ATP} -каналу, у практично здорових людей (ПЗЛ, n=98), хворих на інфаркт міокарда (ІМ, n=107), гостру (ГСН, n=96) та хронічну (ХСН, n=99) серцеву недостатність приведено в табл. 6.1 [7, 8, 360, 539].

Таблиця 6.1

Генетичні особливості (частота алельного поліморфізму) гена KCNJ11 (Glu23Lys) та ABCC8 (Ser1369Ala) у ПЗЛ, хворих на ІМ, ГСН та ХСН людей

Поліморфізм		Практично здорові люди		Хворі люди					
Glu23Lys	Ser1369Ala			Інфаркт міокарда		Гостра серцева недостатність		Хронічна серцева недостатність	
Генотип		n=98	%	n=107	%	n=96	%	n=99	%
Glu/Glu	Ser/Ser	37	37,76	43	40,19	40	41,67	43	43,43
Glu/Lys	Ser/Ala	46	46,94	47	43,93	41	42,71	44	44,44
Lys/Lys	Ala/Ala	15	15,31	17	15,89	15	15,63	12	12,12

Розподіл алельних частот цих поліморфізмів у населення України у всіх чотирьох групах (C/C:C/T:T/T – 37:46:15 у ПЗЛ, 43:47:17 у хворих на ІМ, 40:41:15 та 43:44:12 відповідно у хворих на ГСН та ХСН) відповідав закону Харді-Вайсберга.

Виявлено, що у всіх групах людей частота мажорних гомозигот (Glu/Glu та Ser/Ser) та гетерозигот змінюються незначним чином. Зокрема, показники першої складають 37,8; 40,2; 41,7 та 43,4%, показники другої - 46,9; 43,9; 42,7 та 44,4%. Практично не відрізняється у ПЗЛ, хворих на ІМ та ГСН розподіл гомозигот

мінорного типу - Lys/Lys та Ala/Ala. Водночас у хворих на ХСН відбувається їх перерозподіл у сторону зменшення: 15,3; 15,9; 15,6% (у ПЗЛ, хворих на ІМ та ГСН) та 12,1% у хворих на ХСН, а саме у 1,26 раза порівняно з групою ПЗЛ (див. табл. 6.1). Проте значних відмінностей за критерієм χ^2 між цими групами не спостерігається – $P=0,98$.

Розподіл алельного поліморфізму Ile337Val гена KCNJ11 у мешканців України у ПЗЛ (n=90), хворих на ІМ (n=102), ГСН (n=93) та ХСН (n=98) приведено в табл. 6.2.

Таблиця 6.2

Генетичні особливості (частота алельного поліморфізму) гена KCNJ11 (Ile337Val) у ПЗЛ, хворих на ІМ, ГСН та ХСН людей

Поліморфізм Ile337Val	Практично здорові люди		Хворі люди					
			Інфаркт міокарда		Гостра серцева недостатність		Хронічна серцева недостатність	
Генотип	n=90	%	n=102	%	n=93	%	n=98	%
Ile/Ile	32	35,56	33	32,35	35	37,63	40	40,82
Ile/Val	41	45,56	52	50,98	40	43,01	44	44,9
Val/Val	17	18,89	17	16,67	18	19,35	14	14,29

Розподіл алельних частот цього поліморфізму у всіх чотирьох групах (C/C:C/T:T/T – 32:41:17 у ПЗЛ, 33:52:17 у хворих на ІМ, 35:40:18 та 40:44:14 відповідно у хворих на ГСН та ХСН) відповідав закону Харді-Вайсберга.

Виявлено, що у всіх групах людей частота мажорних гомозигот (Ile/Ile) та гетерозигот змінюються незначним чином, з деяким зменшенням перших та підвищенням других за ІМ, та дещо зменшується частота по мінорній (Val/Val) гомозиготі (див. табл. 6.2). Проте найбільшого зниження (у 1,32 раза порівняно з групою ПЗЛ) зазнає частота алельного поліморфізму саме по мінорній гомозиготі у хворих на ХСН. Однак, значних відмінностей за критерієм χ^2 між цими групами не спостерігається – $P=0,98$.

Підрозділ 6.3. Зміна показників ехокардіографії у людей з хронічною серцевою недостатністю за алельних поліморфізмів Ile337Val, Glu23Lys та Ser1369Ala

Аналіз результатів ехокардіографії хворих на ХСН за поліморфізму Ile337Val показав, що кінцево-систоличний об'єм (КСО) лівого шлуночка (ЛШ) у пацієнтів із генотипом Val/Val складав $114,37 \pm 14,03$ мл, що було значно менше (на 31,8 %) ніж у гетерозигот (Ile/Val) – $150,79 \pm 8,3$ мл (рис. 6.4 а) [7, 8, 360, 539].

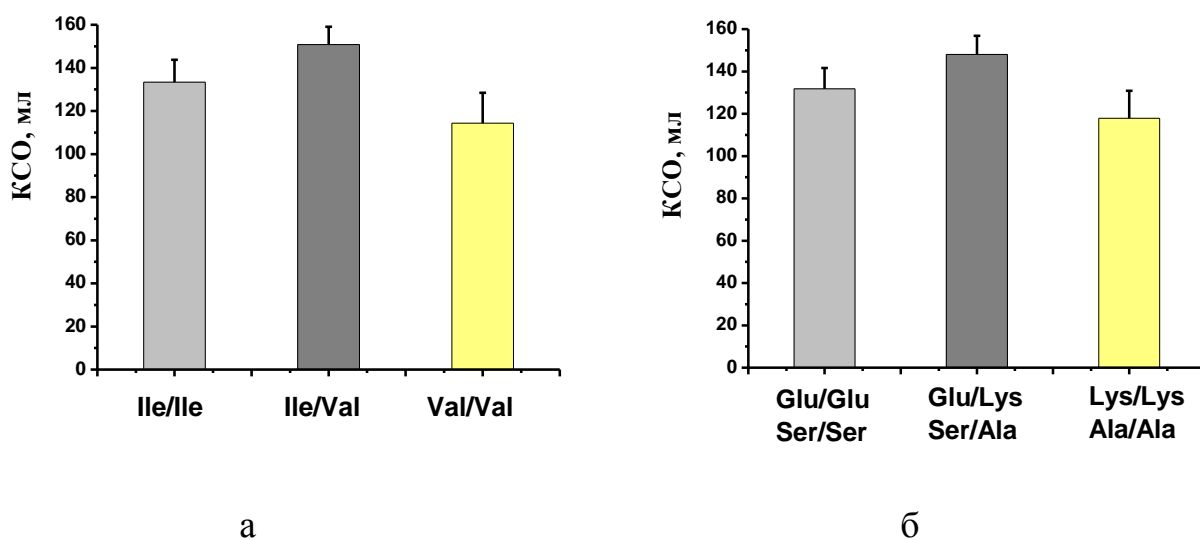


Рис. 6.4 Залежність кінцево-систоличного об'єму лівого шлуночка у хворих на ХСН від алельного поліморфізму Ile337Val гена KCNJ11 (а) та Glu23Lys гена KCNJ11, Ser1369Ala гена ABCC8 (б).

Подібні дані отримані що до кінцево-діастолічного об'єму (КДО) ЛШ: у гомозигот Val/Val – $173,86 \pm 13,81$ мл, що було менше на 24,7 % ніж у носіїв гетерозигот – $216,83 \pm 10,09$ мл (рис. 6.5 а). Аналогічним чином змінювалася і маса ЛШ. За генотипу Val/Val вона була достовірно меншою на 27,3 % ($P=0,009$) ($334,15 \pm 19,12$ г) в порівнянні із носіями гетерозигот ($425,48 \pm 19,62$ г), та меншою на 18,6 % в порівнянні з носіями гомозигот Ile/Ile ($396,26 \pm 18,15$ г) (рис. 6.6). Індекси КСО та КДО між групами з генотипами Ile/Val та Val/Val мали

тенденцію до статистичної достовірності ($P=0,078$ та $P=0,063$ відповідно). Індекс маси ЛШ за генотипу Val/Val порівняно з носіями гетерозигот також був статистично достовірно меншим ($P=0.016$), а саме на 28.4 % (табл. 6.1).

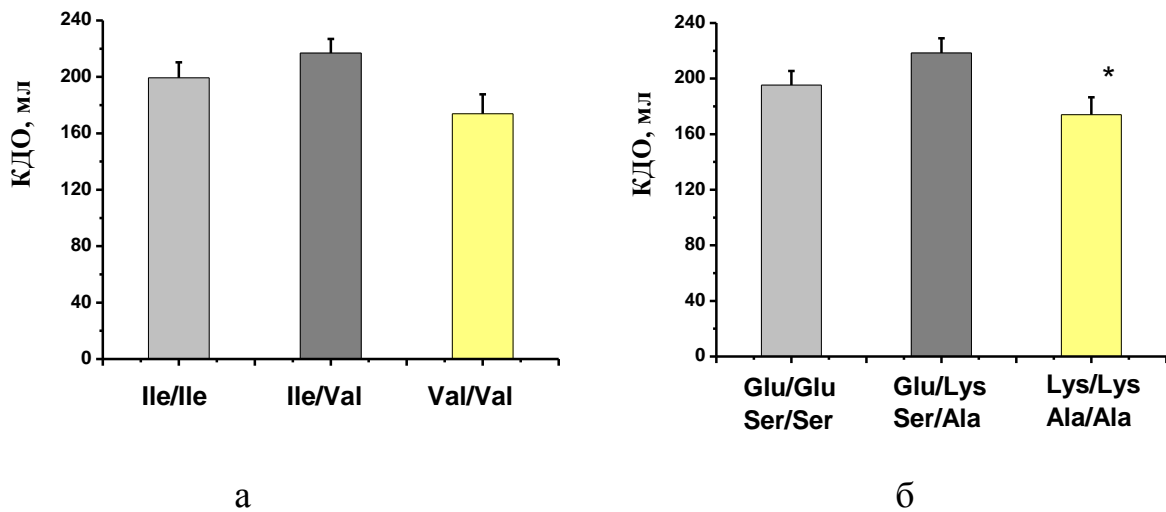


Рис. 6.5 Залежність кінцево-діастолічного об'єму лівого шлуночка у хворих на ХСН від алельного поліморфізму Ile337Val гена KCNJ11 (а) та Glu23Lys гена KCNJ11, Ser1369Ala гена ABCC8 (б). * $P<0,05$ порівняно з гетерозиготою.

У хворих із генотипом Ile/Ile показники КСО і КДО ЛШ становили $133,36 \pm 10,44$ та $199,35 \pm 11,02$ мл, та достовірно не відрізнялися у порівнянні з носіями генотипів Ile/Val та Val/Val (див. табл. 6.1). Такі показники, як фракція викиду (ФВ) ЛШ та розмір лівого передсердя (ЛП) у пацієнтів з генотипами Ile/Ile, Ile/Val та Val/Val не мали значних відмінностей [7, 8, 360, 539].

Аналіз результатів ехокардіографії за поліморфізмів Glu23Lys та Ser1369Ala показав, що КСО ЛШ мав найвищі значення у гетерозигот $148,0 \pm 8,82$ мл (рис. 6.4 б). Водночас найменші значення були у гомозит за мінорним типом (Lys/Lys та Ala/Ala) – $117,91 \pm 12,94$ мл. Такий показник, як КДО ЛШ у гетерозигот становив $218,45 \pm 10,55$ мл та був достовірно більшим (на 26,8 %, $P=0,042$) порівняно із людьми, що мали мінорні гомозиготи (Lys/Lys та Ala/Ala) – $172,23 \pm 11,61$ мл (рис. 6.5 б). Порівняння показників іКСО та іКДО ЛШ за мінорних гомозигот в зазначених групах показало тенденцію зменшення. У носіїв гетерозигот (Glu/Lys та Ser/Ala) виявлено значно більшу (на 20,7 %) масу ЛШ –

423,87 \pm 19,34 г в порівнянні із носіями генотипів Lys/Lys та Ala/Ala - 351,3 \pm 23,32 г (рис. 6.6 б). А індекс цього показника за генотипів Lys/Lys та Ala/Ala виявився достовірно меншим на 22,9 % ($P=0,032$).

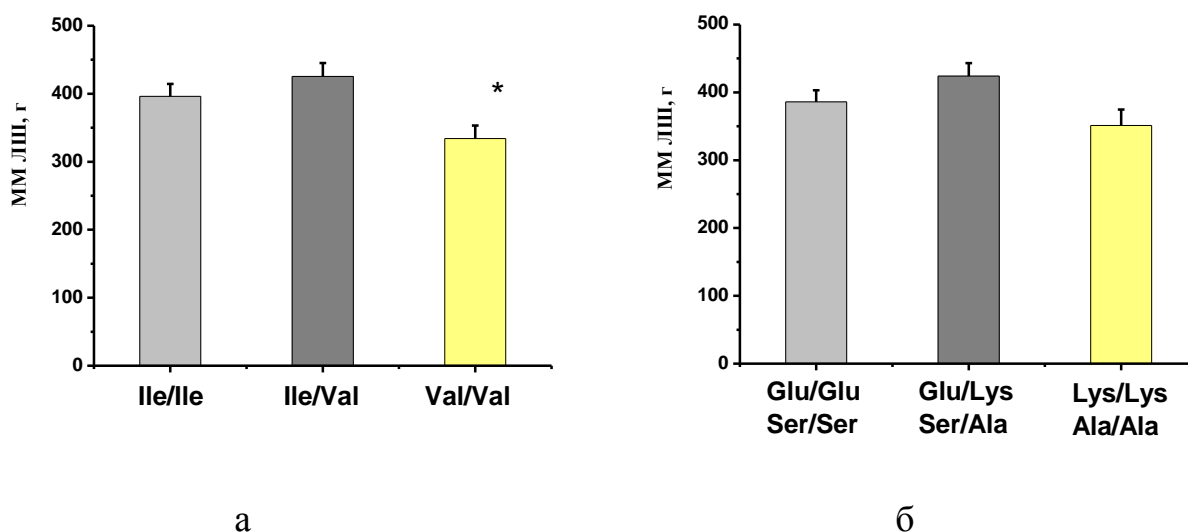


Рис. 6.6 Залежність маси лівого шлуночка у хворих на ХСН від алельного поліморфізму Ile337Val гена KCNJ11 (а) та Glu23Lys гена KCNJ11, Ser1369Ala гена ABCC8 (б). * $P<0,05$ порівняно з гетерозиготою.

У хворих з генотипом (Glu/Glu та Ser/Ser) КСО і КДО ЛШ становив 131,81 \pm 9,85 та 195,37 \pm 10,14 мл відповідно, маса ЛШ – 386,07 \pm 17,09 г. Дані показники не мали значної відмінності від таких за гетерозигот (Glu/Lys та Ser/Ala) та мінорних гомозигот (Lys/Lys та Ala/Ala). Такі показники, як ФВ ЛШ та розмір ЛП у пацієнтів з цими поліморфізмами достовірно не відрізнялися між собою (див. табл. 6.1).

Таким чином, показано, що у хворих на ХСН за поліморфізму Ile337Val та Glu23Lys гена KCNJ11 та поліморфізму Ser1369Ala гена ABCC8 найбільш негативні відхилення показників ехокардіографії відповідають людям з гетерозиготою по цим поліморфізмам. Зокрема, спостерігається значне збільшення маси ЛШ та найвищий рівень КСО і КДО. Незначна тенденція до зменшення фракції викиду та збільшення лівого передсердя (див. табл. 6.1).

Високий рівень КСО може свідчити про суттєве порушення скорочувальної функції ЛШ за гетерозигот у хворих на ХСН. Що співвідноситься зі зниженням

функції K_{ATP} -каналу за поліморфізму, внаслідок зміни структури окремих субодиниць каналу та порушення їх взаємодії з сусідніми [441, 445, 464].

Таблиця 6.1

Залежність показників ехокардіографії у хворих на ХСН від генотипу за поліморфізмів Ile337Val, Glu23Lys (ген KCNJ11) та Ser1369Ala (ген ABCC8).

Показники ехокардіо- графії	Алельний поліморфізм Ile337Val (n=98)			Алельний поліморфізм Glu23Lys та Ser1369Ala (n=99)		
	Ile/ Ile (n=40) 40,8%	Ile/Val (n=44) 44,9%	Val/Val (n=14) 14,3%	Glu/Glu Ser/Ser (n=43) 43,4%	Glu/Lys Ser/Ala (n=44) 44,4%	Lys/Lys Ala/Ala (n=12) 12,2%
КСО, мл	133,5 ± 10,44	150,79 ± 8,30	114,37 ± 14,03	131,81 ± 9,85	148,0 ± 8,82	117,91 ± 12,94
ІКСО, мл/м ²	64,11 ± 5,02	76,22 ± 4,18	55,99 ± 6,89	64,29 ± 4,8	73,22 ± 4,3	56,94 ± 6,20
КДО, мл	199,35 ± 11,02	216,83 ± 10,09	173,86 ± 13,81	195,37 ± 10,14	218,45 ± 10,55	172,23 * ± 11,61
ІКДО, мл/м ²	95,84 ± 5,30	109,63 ± 5,08	84,44 ± 6,65	95,77 ± 4,97	107,37 ± 5,14	84,17 ± 5,95
ММЛШ, г	396,18 ± 17,61	425,48 ± 19,62	334,15 * ± 19,12	386,07 ± 17,09	423,87 ± 19,34	351,30 ± 23,32
ІММЛШ, г/м ²	193,00 ± 8,54	208,45 ± 9,45	162,30 * ± 8,43	188,32 ± 8,39	207,64 ± 9,32	168,99 * ± 9,60
Фракція викиду, %	36,0 ± 4,17	32,0 ± 1,95	37,0 ± 2,41	33,9 ± 3,83	32,8 ± 2,2	35,2 ± 2,42
ЛП, мм	4,8 ± 0,16	5,1 ± 0,13	4,8 ± 0,1	5,0 ± 0,15	5,2 ± 0,16	4,8 ± 0,14

Примітка:

1. *P<0,05 порівняно з гетерозиготою,
2. КДО – об'єм лівого шлуночка в діастолі,
3. КСО – об'єм лівого шлуночка за систоли,
4. ІКДО – індекс об'єму лівого шлуночка в діастолі,
5. ІКСО – індекс об'єму лівого шлуночка за систоли,

6. ММЛШ – можлива маса лівого шлуночка,
7. ІММЛШ – індекс можливої маси лівого шлуночка,
8. ЛП – розмір лівого передсердя.

Найменша маса ЛШ та рівень КСО у хворих на ХСН спостерігається за мінорних гомозигот (Val/Val, Lys/Lys, Ala/Ala), що вказує на відносне збереження структури та скоротливої функції міокарда, порівняно з людьми, що мають гетерозиготи. Водночас за мінорної гомозиготи найбільшим чином зменшується рівень КДО (ступінь розширення серця в діастолі), що вірогідно пов'язано з найменшим збільшенням ЛШ (див. табл. 6.1).

Такі позитивні зміни у показниках ехокардіографії у хворих, що мають генотип з мінорними гомозиготами (Val/Val, Lys/Lys, Ala/Ala) по цим поліморфізмам співпадають з даними щодо розподілу алелей. А саме, зменшення їх частоти за поліморфізмів Glu23Lys та Ser1369Ala у 1,26 раза, за Ile337Val - у 1,32 раза порівняно зі здоровими людьми. Тобто, у групі хворих людей – менш поширені протекторні мінорні гомозиготи. Водночас відомо, що за варіанту 23Lys алельного поліморфізму Glu23Lys та варіанту 337Val поліморфізму Ile337Val гена KCNJ11 може збільшуватися провідність K_{ATP} -каналу [390, 464].

Отже, за мінорних гомозигот Val/Val та Lys/Lys поліморфізмів Ile337Val та Glu23Lys гена KCNJ11 функціональна активність каналу повинна підвищуватися, наслідком чого і можуть бути позитивні зміни показників ехокардіографії хворих людей. Водночас за гетерозигот (Glu/Lys та Ile/Val), взаємодія між канальними субодиницями (Kir6.2) можливо дещо порушується, що і призводить до найбільш негативних показників ехокардіографії. У хворих на ХСН з гетерозиготами за поліморфізму Ile337Val та Glu23Lys гена KCNJ11 та поліморфізму Ser1369Ala гена ABCC8 спостерігається значне збільшення маси ЛШ (ймовірно за рахунок гіпертрофії) та порушення його скоротувальної функції. Тоді як, за мінорних гомозигот в патогенезі серцевої недостатності відбувається попередження як значного зростання маси ЛШ, так і зниження скоротливої функції міокарда [7, 8, 360, 539].

РОЗДІЛ 7

ДОСЛІДЖЕННЯ ЕКСПРЕСІЇ SUR1, SUR2, KIR6.1 ТА KIR6.2 У ЩУРІВ ЛІНІЇ У SHR ТА WISTAR-KYOTO

Дослідження експресії SUR1- (складові мітохондріальних, нейрональних та атріальних K_{ATP} -каналів) та SUR2-рецепторів (складові сарколемальних каналів міокарда шлуночків та судин), що кодують гени ABCC8 та ABCC9 відповідно, у міокарді лівого шлуночка дорослих щурів (віком 6 місяців) та старих (віком 18 місяців) з генетично детермінованою артеріальною гіпертензією (SHR) показало, що їх експресія значно змінена порівняно зі щурами лінії Wistar-Kyoto відповідного віку (табл. 7.1).

Таблиця 7.1

Експресія SUR1, SUR2, Kir6.1 та Kir6.2 субодиниць K_{ATP} -каналів у щурів лінії Wistar-Kyoto та SHR різного віку

Щури лінії Subодиниці K_{ATP} -каналу	Wistar-Kyoto		Спонтанно гіпертензивні щури (SHR)	
	Дорослі (6 міс.), n=7	Старі (18 міс.), n=6	Дорослі (6 міс.), n=5	Старі (18 міс.), n=6
SUR1	0,318 ± 0,12	2,390 ± 2,14*	0,222 ± 0,14	0,024±0,005***
SUR2	34,581 ± 13,67	8,804 ± 3,84*	8,812 ± 4,30**	0,183 ± 0,05***
Kir6.1	121,45 ± 40,4	149,17 ± 53,26	19,41 ± 7,35**	131,92 ± 27,24*
Kir6.2	259,23 ± 146,2	67,57 ± 20,0*	12,39 ± 3,98**	73,05 ± 16,56*

Примітки:

1. *P<0,05 – старі щури відносно дорослих,
2. **P<0,05 – щури лінії SHR відносно щурів лінії Wistar-Kyoto.

SUR1 є особливим об'єктом дослідження, адже вони є складовою частиною K_{ATP} -каналів каналів мітохондріальних мембран. Показано, що у дорослих (6 міс.)

щурів обох ліній як Wistar-Kyoto, так і SHR рівень мРНК SUR1 достовірно не відрізняється (див. табл. 7.1). Проте, якщо з віком у щурів Wistar-Kyoto експресія SUR1 значно збільшується (у 7,5 раза, $P < 0,05$), то у SHR тварин навпаки, суттєво зменшується (у 9,3 раза, $P < 0,05$). Різниця рівнів експресії SUR1 у старих щурів обох ліній була ще більш вражаючою – у тварин лінії SHR він був нижчим у 99,5 раза ($P < 0,05$) порівняно з молодими (див. табл. 7.1). Вірогідно, збільшення експресії SUR1-рецепторів мітохондріального типу у старих щурів лінії Wistar-Kyoto є компенсаторним захисним механізмом, направленим на підтримання енергозабезпечення (синтезу АТФ) клітин, зокрема міокарда. Значне зменшення їх експресії у щурів лінії SHR може сприяти розвитку патологічних процесів та бути одним з механізмів декомпенсації недостатності серця.

SUR2-рецептор разом з Kir6.1 та Kir6.2 утворює сарколемальні K_{ATP} -канали судинних гладенько-м'язових клітин (важливий регулятор судинного тонуусу) та кардіоміоцитів (знижує мембранний потенціал спокою та зменшує тривалість потенціалу дії) відповідно. Виявлено, що експресія SUR2-рецептору з віком значно зменшується. А саме, у щурів лінії Wistar-Kyoto у 3,9 раза ($P < 0,05$), у щурів SHR у 48,2 раза ($P < 0,05$), (табл. 7.1). Проте, у старих спонтанно гіпертензивних щурів експресія SUR2-рецептору була у 48,1 раза ($P < 0,05$) нижчою, порівняно зі щурами лінії Wistar-Kyoto такого ж віку.

Таким чином, рівні експресії SUR1 та SUR2 у старих спонтанно гіпертензивних щурів були значно меншими порівняно з молодими, а також порівняно з рівнем експресії цих рецепторів у старих щурів лінії Wistar-Kyoto.

Водночас у міокарді молодих дорослих щурів лінії SHR рівні мРНК як судинного (Kir6.1), так і серцевого (Kir6.2) типу субодиниць K_{ATP} -каналів були значно зменшені (у 6,3 та 20,9 раза відповідно, $P < 0,05$) порівняно з аналогічними за віком щурами лінії Wistar-Kyoto (табл. 7.1). Зокрема, експресія субодиниць Kir6.1 та Kir6.2 у SHR щурів становила $19,41 \pm 7,35$ та $12,39$ в. од. $\pm 3,98$ в. од. порівняно з $121,45 \pm 40,4$ та $259,23$ в. од. $\pm 146,2$ в. од. у щурів лінії Wistar-Kyoto відповідно.

Рівень мРНК Kir6.1 та Kir6.2 субодиниць у SHR щурів з віком (на відміну

від SUR-рецепторів) зростав та у старих тварин був достовірно більшим у 6,8 та 5,9 рази ($P < 0,05$) порівняно з дорослими 6-місячними щурами (табл. 7.1). При цьому експресія цих білків у старих SHR щурів становила $131,92 \pm 27,24$ та $73,05$ в. од. $\pm 16,56$ в. од. для Kir6.1 та Kir6.2 відповідно, що достовірно не відрізнялося від такої у старих щурів лінії Wistar-Kyoto ($149,17 \pm 53,26$ та $67,57$ в. од. $\pm 20,0$ в. од. відповідно).

Дослідження експресії цих субодиниць у старих щурів лінії Wistar-Kyoto показало, що якщо рівень експресії Kir6.1 (судинного типу) у міокарді зберігався ($149,17 \pm 53,26$ порівняно до $121,45$ в. од. $\pm 40,4$ в. од. у 6 місячних), то рівень експресії Kir6.2 (серцевого типу) у старих щурів знижувався у 3,8 рази ($67,57 \pm 20,0$ відносно $259,23$ в. од. $\pm 146,2$ в. од. відповідно, $P < 0,05$), (див. табл. 7.1).

Отже, у старих 18-місячних щурів обох ліній рівень експресії Kir6.2 та Kir6.1 субодиниць K_{ATP} каналів у міокарді лівого шлуночка практично вирівнюється. А саме, для Kir6.2 він складає $67,57 \pm 20,0$ у Wistar-Kyoto відносно $73,05$ в. од. $\pm 16,56$ в. од. у SHR, для Kir6.1 – $149,17 \pm 53,26$ відносно $131,92$ в. од. $\pm 27,24$ в. од. відповідно. Більше того, у гіпертензивних старих щурів рівень експресії судинних (Kir6.1) субодиниць ($131,92$ в. од. $\pm 27,24$ в. од.) достовірно не відрізняється від рівня її експресії у звичайних щурів (див. табл. 7.1).

Таким чином, вперше показано, що рівень експресії Kir6.1, Kir6.2 та SUR2 субодиниць сарколемальних K_{ATP} -каналів у дорослих 6-місячних щурів лінії SHR значно менший порівняно зі щурами лінії Wistar-Kyoto, що може бути однією із причин підвищеного судинного тиску у генетично детермінованих спонтанно гіпертензивних щурів. Вірогідно, що значно менший рівень експресії регуляторних SUR1- та SUR2-рецепторів калієвих каналів у старих 18-місячних SHR щурів може бути одним із механізмів декомпенсації недостатності серця.

ЗАКЛЮЧЕННЯ

За допомогою молекулярно-генетичних досліджень проведено генотипування 529 жителів України щодо поширення алельних поліморфізмів Ile337Val та Glu23Lys гена KCNJ11, а також Ser1369Ala гена ABCC8, що кодують Kir6.2- та SUR1-субодиниці K_{ATP} -каналу відповідно. Розподіл генотипів Ile/Ile, Ile/Val та Val/Val за поліморфізму Ile337Val у 383 осіб становив 36,6, 46,2 та 17,2 % відповідно. Частота генотипів Glu/Glu, Glu/Lys та Lys/Lys поліморфізму Glu23Lys та генотипів Ser/Ser, Ser/Ala та Ala/Ala поліморфізму Ser1369Ala у 504 осіб складала 40,9, 44,8 та 14,3 % відповідно. Виявилося, що успадкування алельних поліморфізмів Glu23Lys та Ser1369Ala є зчепленим. Поширення поліморфізмів Ser1369Ala, Ile337Val та Glu23Lys в українській популяції відповідало закону Харді-Вайнберга та показало подібність до європейської та близькість до азійської популяцій з деяким збільшенням генотипу Val/Val, та суттєво відрізнялось від африканської [389-391].

Вперше показано, що у практично здорових людей, хворих на інфаркт міокарда, гостру та хронічну серцеву недостатність частота мажорних гомозигот та гетерозигот змінюється незначним чином. Проте у хворих на хронічну серцеву недостатність частота гомозигот мінорного типу є дещо зменшеною, зокрема у 1,26 (Glu23Lys та Ser1369Ala) та у 1,32 (Ile337Val) рази відповідно, що збігається з попередженням значного зростання маси ЛШ та її індексу. Взагалі, аналіз таких показників ехокардіографії хворих на ХСН як маса ЛШ, кінцево-діастолічний та систолічний об'єми ЛШ та фракція викиду показав, що найбільш патологічні зміни спостерігаються у носіїв гетерозиготних генотипів (Ile/Val, Glu/Lys та Ser/Ala) за поліморфізмів Ile337Val, Glu23Lys та Ser1369Ala. Ці результати виявились досить очікуваними, адже алельні поліморфізми структурних складових K_{ATP} -каналів – Kir6.x та SUR-рецепторів зазвичай мають погіршувати кардіопротекторні ефекти їх активації [445, 464]. Проте для поліморфізмів Glu23Lys та Ile337Val гену KCNJ11 (Kir6.2) показано, що за їх алельних варіантів 23Lys та 337Val відповідно зменшується чутливість K_{ATP} -каналів до інгібуючої

дії АТФ [444, 464]. Тобто ці канали повинні знаходитись довше у функціонально активному відкритому стані і мати більшу протекторну дію. Дійсно, як виявилось, показники ехокардіографії у хворих на ХСН, що мають генотип з мінорними гомозиготами (Val/Val, Lys/Lys, Ala/Ala) виявилися найменш патологічно зміненими. Зокрема, за генотипу Val/Val спостерігається достовірне зменшення маси ЛШ та її індексу на 27,3 ($P < 0,05$) та 28,4 % ($P < 0,05$) відповідно та індексу маси ЛШ на 22,9 % ($P < 0,05$) за генотипів Lys/Lys і Ala/Ala порівняно з носіями гетерозигот. Достовірним по відношенню до генотипів з гетерозиготами у двох останніх виявилось також зменшення (на 26,8 %, $P < 0,05$) такого показника ехокардіографії як КДО ЛШ.

Таким чином, вперше показано, що у хворих на ХСН з гетерозиготами за поліморфізмів Ile337Val, Glu23Lys та Ser1369Ala спостерігається значне збільшення маси, КСО та КДО ЛШ, порушується його скоротлива функція. Водночас, за генотипів з мінорною гомозиготою (Val/Val, Lys/Lys, Ala/Ala) за цих поліморфізмів вищезгадані показники ехокардіографії є найменш патологічно зміненими.

Дослідження експресії SUR1- (особливий об'єкт дослідження, адже вони є складовою частиною $K_{\text{АТФ}}$ -каналів мітохондріальних мембран) та SUR2-рецепторів (складові сарколемальних каналів міокарда шлуночків та судин), що кодують гени ABCC8 та ABCC9 відповідно, у міокарді лівого шлуночка дорослих щурів (віком 6 міс) та старих (віком 18 міс) з генетично детермінованою артеріальною гіпертензією (SHR) показало, що їх експресія значно змінена порівняно зі щурами лінії Wistar-Kyoto відповідного віку. Зокрема, якщо у дорослих щурів обох ліній як Wistar-Kyoto, так і SHR рівень мРНК SUR1 достовірно не відрізняється, то з віком у щурів Wistar-Kyoto експресія SUR1 значно збільшується (у 7,5 раза), а у SHR тварин навпаки, суттєво зменшується (у 9,3 раза). Різниця рівнів експресії SUR1 у старих щурів обох ліній була ще більш вражаючою – у тварин лінії SHR він був нижчим у 99,5 раза порівняно з молодими. Вірогідно, збільшення експресії SUR1-рецепторів мітохондріального типу у старих щурів лінії Wistar-Kyoto є компенсаторним захисним механізмом,

направленим на підтримання енергозабезпечення (синтезу АТФ) клітин, зокрема міокарда. Значне зменшення їх експресії у щурів лінії SHR може сприяти розвитку патологічних процесів та бути одним з механізмів декомпенсації недостатності серця.

SUR2-рецептор разом з Kir6.1 та Kir6.2 утворює сарколемальні K_{ATP} -канали судинних гладенько-м'язових клітин (важливий регулятор судинного тонуусу) та кардіоміоцитів (знижує мембранний потенціал спокою та зменшує тривалість потенціалу дії) відповідно. Виявлено, що експресія SUR2-рецептору з віком значно зменшується. А саме, у щурів лінії Wistar-Kyoto у 3,9 раза, у щурів SHR у 48,2 раза. Проте, у старих спонтанно гіпертензивних щурів експресія SUR2-рецептору була у 48,1 раза ($P < 0,05$) нижчою, порівняно зі щурами лінії Wistar-Kyoto такого ж віку.

Таким чином, рівні експресії SUR1 та SUR2 у старих спонтанно гіпертензивних щурів були значно меншими порівняно з молодими, а також порівняно з рівнем експресії цих рецепторів у старих щурів лінії Wistar-Kyoto.

Водночас у міокарді дорослих щурів лінії SHR рівні мРНК як судинного (Kir6.1), так і серцевого (Kir6.2) типу субодиниць K_{ATP} -каналів були значно зменшені (у 6,3 та 20,9 раза відповідно) порівняно з аналогічними за віком щурами лінії Wistar-Kyoto. Зокрема, експресія субодиниць Kir6.1 та Kir6.2 у SHR щурів становила 19,4 та 12,4 в. од. порівняно з 121,5 та 259,2 в. од. у щурів лінії Wistar-Kyoto відповідно.

Рівень мРНК Kir6.1 та Kir6.2 субодиниць у SHR щурів з віком (на відміну від SUR-рецепторів) зростає та у старих тварин був достовірно більшим у 6,8 та 5,9 раза порівняно з молодими 6-місячними щурами. При цьому експресія цих білків у старих SHR щурів становила 131,9 та 73,05 в. од. для Kir6.1 та Kir6.2 відповідно, що достовірно не відрізнялося від такої у старих щурів лінії Wistar-Kyoto (149,2 та 67,6 в. од. відповідно).

Дослідження експресії цих білків у старих щурів лінії Wistar-Kyoto показало, що якщо рівень експресії Kir6.1 (судинного типу) у міокарді зберігався (149,2 порівняно до 121,5 в. од. у дорослих), то рівень експресії Kir6.2 (серцевого

типу) у старих щурів знижувався у 3,8 раза (67,6 відносно 259,2 в. од. відповідно).

Отже, у старих 18-місячних щурів обох ліній рівень експресії Kir6.2 та Kir6.1 субодиниць K_{ATP} каналів у міокарді лівого шлуночка практично вирівнюється. А саме, для Kir6.2 він складає 67,6 у Wistar-Kyoto відносно 73,1 в. од. у SHR, для Kir6.1 – $149,2 \pm 53,3$ відносно 131,9 в. од. відповідно. Більше того, у гіпертензивних старих щурів рівень експресії судинних (Kir6.1) субодиниць (131,9 в. од.) достовірно не відрізняється від рівня її експресії у звичайних щурів.

Таким чином, вперше показано, що рівень експресії Kir6.1, Kir6.2 та SUR2 субодиниць сарколемальних K_{ATP} -каналів у дорослих 6-місячних щурів лінії SHR значно менший порівняно зі щурами лінії Wistar-Kyoto, що може бути однією із причин підвищеного судинного тиску у генетично детермінованих спонтанно гіпертензивних щурів. Вірогідно, що значно менший рівень експресії регуляторних SUR1- та SUR2-рецепторів калієвих каналів у старих 18-місячних SHR щурів може бути одним із механізмів декомпенсації недостатності серця.

В електрофізіологічних експериментах досліджено дію активації SUR-рецепторів калієвих каналів на збудливість нативних культивованих кардіоміоцитів неонатальних щурів та активність рекомбінантного, кардіоспецифічного K_{ATP} -каналу в клітинах HEK-293_{6.2/2A} зі стабільною гетерологічною експресією Kir6.2 і SUR2A білків. Вперше показано, що в спонтанно скоротливих неонатальних кардіоміоцитах передсердь та шлуночків активація SUR-рецепторів цих каналів спричиняє зворотну гіперполяризацію, зменшує амплітуду та тривалість потенціалу дії (ПД) і частоту скорочень, знижує потенціал спокою та вміст внутрішньоклітинного кальцію.

В експериментах на HEK-293_{6.2/2A} клітинах та ізольованих мітохондріях показано, що нові вітчизняні активатори SUR-рецепторів відкривають K_{ATP} -канали як сарколемальної, так і мітохондріальної мембран. Про що може свідчити активація калієвого струму з внутрішнім випрямленням через гетерологічно експресовані K_{ATP} -канали в HEK-293_{6.2/2A} клітинах та пряме вимірюванні калієвого транспорту в мітохондріях серця і печінки щурів за допомогою калій-селективного електрода.

Характерним для активації SUR-рецепторів калієвих каналів є дилатація коронарних судин, зниження САТ та кардіодепресорні реакції. В експериментах на ізольованому, перфузованому за Лангендорфом серці показано, що стимуляція SUR дозозалежно знижувала КПТ з максимальними ефектом на 24,6 %. А в дослідях *in vivo* на анестезованих собаках активація цих рецепторів дозозалежно знижувала САТ, КПТ та ЗПО з максимальним зменшенням на 44,3, 22,4 та 47,2 % відповідно, а їх потужна активація мала значні кардіодепресорні ефекти: ТЛШ знижувався на 37,1 %, dP/dt_{\max} та dP/dt_{\min} на 51,2 та 55,6 % відповідно, ХОК на 10,9 %, ЧСС на 13,1 %.

Значення вазодилататорних реакцій при активації SUR залежало від природи початкового підвищення судинного тону та наявності патологічного процесу, що може змінювати реактивність судин. Зокрема, вазодилататорні ефекти при стимуляції SUR в експериментах на ізольованих препаратах аорти щурів з цукровим діабетом у хворих тварин були послабленими у 1,29, 1,77 та 1,26 рази на тлі калієвої, норадреналінової та ангіотензинової вазоконстрикції. Проте, лише при значному ступені активації цих рецепторів. Вперше показано, що вазодилатацію спричиняє активація як сарколемальних, так і міто- K_{ATP} -каналів, адже інгібування останніх зменшувало вазодилататорні ефекти індуковані активацією SUR.

Активація SUR має виражену антиоксидантну та мембранопротекторну дію, потужний вплив на систему оксиду азоту, значно підвищує оксигенацію плазми крові та пригнічує гемоксигеназну реакцію. Зокрема, дозозалежно пригнічувало утворення пероксиду водню та ДК (максимальне зменшення у 7,2 та 6,3 рази відповідно через 60 хв після стимуляції цих рецепторів і супероксид-радикала ($O_2^{\cdot-}$), пригнічуючи активність фермента ксантинооксидази, про що свідчить зниження вмісту сечової кислоти (максимально у 5,3 рази через 60 хв). Разом з цим, активування SUR-рецепторів за фізіологічних умов не змінювало активність таких ферментів антиоксидантного захисту як СОД та каталаза. Виявлено, що відкривання K_{ATP} -каналів може обмежувати генерацію не тільки АФК, але й АФА (утворення пероксинітриту) за рахунок пригнічення продукції супероксид-

радикала ксантинооксидазою і синтезу оксиду азоту ферментом iNOS. Про це говорить зменшення пулів NO_3^- (більше ніж вдвічі), який утворюється при розпаді пероксинітриту нерадикальним шляхом.

Вперше показано, що активація SUR стимулює синтез оксиду азота cNOS, про що свідчить дозозалежне збільшення пулів цитруліну та підвищення активності цих ферментів у плазмі крові максимально втричі для обох показників через 20 хв після стимуляції вищезгаданих рецепторів. У 3,7 раза підвищується значення індексу оксигенації плазми крові. Підтвердженням цього є збільшення у 3,1 раза в плазмі крові концентрації нітрит-аніона та підвищенням у 5,6 раза його частки як у сумі ($\text{NO}_2^- + \text{NO}_3^-$), так і у 2,4 раза в сумі ($\text{NO}_2^- + \text{HMNT} + \text{BMNT}$). Вперше показано, що активація SUR дозозалежно пригнічує активність ферменту iNOS з найбільшим зменшенням (у 2,1 раза) через 60 хв після їх активації.

Виявлено, що за умов, близьких до фізіологічних, активування цих рецепторів призводить до зменшення вмісту в плазмі крові вільної арахідонової кислоти (максимально у 1,8), що може свідчити про гальмування деградації фосфоліпідів клітинних мембран (мембраностабілізація), ймовірно, в результаті пригнічення активності фосфоліпази A_2 .

Вперше показано, що стимуляція SUR вищезгаданих каналів не змінює сумарну кількість продуктів неповної деградації АТФ і ГТФ (інозит + гіпоксантин + ксантин) та пули неорганічного фосфату.

Виявлено, що потужна стимуляція згаданих рецепторів пригнічує активність ферменту гемоксигенази, про що свідчить зменшення в плазмі крові пулів одразу двох продуктів цієї реакції – заліза та білірубину, максимально у 1,9 і 2,9 раза відповідно.

Таким чином, активація SUR призводить до обмеження генерації АФК та АФА, пригнічення індукцйбельного і, навпаки, підвищення конститутивного *de novo* синтезу оксиду азоту, пригнічення гемоксигеназної реакції та зменшення утворення вільної арахідонової кислоти.

В експериментах з ішемією-реперфузією ізольованого за Лангендорфом серця щурів і морських свинок показано, що передішемична активація SUR

суттєво поліпшувала відновлення роботи ішемізованого міокарда під час реперфузії. Зокрема, таких показників скоротливої активності серця, як швидкість відновлення скорочень ішемізованого серця з початку реперфузії, відновлення систолічного тиску та тиску, що розвивається у лівому шлуночка. Позитивним також є попередження підвищення КДТ і реперфузійної вазоконстрикції коронарних судин та значно меншу кількість реперфузійних порушень ритму.

Аналіз результатів кардіогемодинаміки в експериментах з локальною ішемією-реперфузією міокарда анастезованих собак *in vivo* показав, що при ішемії значного зниження зазнає скоротлива функція міокарда: ТЛШ – на 15,8 %, швидкість скорочення (dP/dt_{\max}) та розслаблення (dP/dt_{\min}) лівого шлуночка (відповідно на 20,7 та 19,9 %) та ХОК – на 28,7 %. Виникають порушення ритму серця. Під час реперфузії продовжується зниження значень цих показників та значно зростають тиск в коронарних судинах, ЗПО та екстрасистолія.

Передішемична стимуляція SUR-рецепторів спричиняла кардіопротекторні ефекти. Слід відзначити відсутність вазоконстрикції коронарних судин за реперфузії ішемізованого серця, що є одним із важливих механізмів кардіопротекції. Зокрема, при помірній активації цих рецепторів КПТ за реперфузії є наближеним до вихідного рівня. Динаміка такого важливого показника, як САТ при помірній активації цих рецепторів не відрізнялася від контрольних експериментів. Проте, при потужнішій активації SUR САТ знижувався, а саме на початок реперфузії він зменшувався на 17 та 20 % відповідно, а на кінець реперфузії – вже на 20 та 29 % відповідно від вихідного рівня. Позитивним для кардіопротекції при ішемії-реперфузії міокарда можна вважати саме помірне зниження артеріального тиску, при якому зменшується навантаження на пошкоджене ішемізоване серце.

Особливу увагу привертає позитивний вплив на підтримання нормальної функції серця при ішемії-реперфузії міокарда помірної активації SUR-рецепторів K_{ATP} -каналів. Вперше показано, що вона практично повністю запобігала зниженню ТЛШ та dP/dt_{\max} як під час ішемії, так і реперфузії, та dP/dt_{\min} під час ішемії. Водночас в контрольних експериментах, без активації вищезгаданих

рецепторів, ці показники суттєво знижувались – на 22,8, 41,5 та 29,1 % на кінець реперфузії відповідно. Позитивні ефекти на скоротливу функцію серця спостерігалися також при середньому ступені активації цих рецепторів, водночас їх потужна активація не мала вираженого протекторного ефекту на ТЛШ та швидкість розслаблення лівого шлуночка за ішемії-реперфузії міокарда, проте запобігала значному зниженню dP/dt_{\max} в кінці ішемії і під час реперфузії.

Оклюдія коронарної артерії призводила до прогресивного зниження ХОК – на 27 та 45 % на кінець ішемії та реперфузії відповідно. Встановлено, що стимуляція вищезгаданих рецепторів запобігала цьому, а на 10-ту та 60-ту хвилину ішемії ХОК навіть дещо перевищував вихідне значення. Стимуляція SUR значною мірою попереджувала суттєве зростання ЗПО (на 53 %) під час реперфузії ішемізованого серця (що зменшує навантаження на нього і, таким чином, запобігає більш глобальним пошкодженням міокарда) та значно зменшувала кількість порушень ритму – з найбільшим ефектом на 60-ту хвилину ішемії та протягом реперфузії – майже в 11 разів ($1,6 \text{ хв}^{-1}$ при активації цих каналів порівняно з $17,3 \text{ хв}^{-1}$ у контролі).

Таким чином, за показниками кардіогемодинаміки до кардіопротекторної дії активації SUR-рецепторів слід віднести помірне зниження артеріального тиску, що послаблює навантаження на уражене серце і сприяє збереженню серцевого викиду в перші години ішемії, попередження реперфузійного підвищення опору коронарних судин та ЗПО, та відносне збереження показників скоротливості міокарда в період реперфузії. Оптимальні кардіопротекторні ефекти виявилися при помірній активації цих рецепторів.

Вперше показано, що кардіопротекторні механізми стимуляції SUR можуть полягати в збереженні на високому рівні конститутивного синтезу NO, пригніченні надлишкового індукцйбельного та реутилізаційного синтезу NO і деградації L-аргініну аргіназою. Значне гальмування реутилізаційного синтезу і збільшення вмісту NO_2^- підтверджує потужну антиішемічну дію активації цих рецепторів.

Зокрема, при ішемії-реперфузії міокарда в лівому шлуночка серця собак

значно зростала швидкість індукцйбельного синтезу оксиду азоту (ферментом iNOS), зокрема в інтактній зоні (у 2,8 раза), зоні ризику (у 6,7 раза) та некрозу (у 18,2 раза) порівняно з умовами нормоксії. Натомість швидкість сумарного конститутивного синтезу оксиду азоту (в основному цитозольним ізоферментом eNOS та ізоферментом nNOS в мітохондріях) при ішемії-реперфузії міокарда, навпаки, була пригнічена, зокрема, у зоні некрозу більш ніж удвічі. А також достовірно зростала неокисна деградація L-аргініну ферментом аргіназою, активність якої збільшувалася порівняно з нормоксією в інтактній зоні (у 1,8 раза), зоні ризику (у 4,1 раза) та некрозу (у 6,5 раза) та активізувався реутилізаційний шлях синтезу оксиду азоту за дії різних нітрит- і нітратредуктаз. Зокрема, відповідно до зон активність НАДФ-залежної нітратредуктази збільшувалася у 9,4, 19,4 та у 52,7 раза.

Активация SUR пригнічувала стимульовані ішемією-реперфузією біохімічні реакції в міокарді. Зокрема, активність ферменту iNOS зменшувалася в зоні некрозу порівняно з ішемією-реперфузією у 4,5 раза, аргінази в зоні ризику та некрозу у 2,7 та 3,3 раза відповідно, нітратредуктази у інтактній, зоні ризику та некрозу у 6,8, 7,6 та 12,4 раза відповідно. Дещо кращими при активації SUR були значення активності cNOS: в інтактній зоні та зоні некрозу вона збільшується порівняно з ішемією-реперфузією на 29,4 та 18,8 % відповідно. Останньому може сприяти індукване відкриванням цих каналів підвищення (у зоні ризику у 2,9 та некрозу у 4,7 раза) вмісту сфінгозину, однією з функцій якого є Ca^{2+} -незалежна активація cNOS через збільшення активності протеїнкінази PKB/Akt.

При ішемії-реперфузії в серці знижувався вміст пулів цитруліну, котрий є супутнім продуктом *de novo* синтезу NO при окисненні L-аргініну. Вперше показано, що стимуляція SUR запобігає значному зниженню його вмісту в міокарді, що збігається як зі збереженням високої активності конститутивного синтезу оксиду азоту, так і зі зниженням активності аргінази.

При ішемії-реперфузії в міокарді суттєво зменшується вміст пулів нітрит-аніона (зокрема, у зоні некрозу у 7,3 раза), який утворюється спонтанно при окисненні оксиду азоту лише в окисгенованих розчинах. Активация SUR не тільки

запобігає цьому зменшенню, а навпаки, сприяє його підвищенню. Зокрема, в інтактній зоні він збільшується порівняно з умовами нормоксії на 79,0 %, а з ішемією-реперфузією у двічі, у зоні некрозу у 8,6 раза. Таким чином, підвищення пулів нітрит-аніона в міокарді та пригнічення реутилізаційного синтезу оксиду азоту, який відбувається винятково в умовах ішемії, може свідчити про потужну антиішемічну дію цих каналів.

Аналіз зазначених показників плазми крові в динаміці ішемії-реперфузії виявив подібні зміни. Так, під час ішемії активність ферменту iNOS зростала у 2,9 раза, при реперфузії у 7,5 раза. Вперше показано, що стимуляція SUR-рецепторів попереджувала це підвищення. І навпаки, при ішемії суттєво знижувалась активність ферменту cNOS, а активація SUR не лише запобігала цьому зниженню, але навіть дещо підвищувала її (у 1,6 раза). Це згодом було підтверджено в дослідках з активацією K_{ATP} -каналів [244, 292, 451, 540, 573]. Активність ферменту аргінази в плазмі крові при ішемії та реперфузії зростала у 8 та 17 разів відповідно, а активація SUR значною мірою запобігала цьому (у 3,7 та 11,5 раза на кінець цих процесів відповідно). Подібно до міокарда, в плазмі крові при ішемії-реперфузії також спостерігали зниження вмісту пулів нітрит-аніона (майже вдвічі). Водночас стимуляція вищезгаданих рецепторів запобігала цьому зниженню, і, навпаки, призводила до практично подвійного підвищення його вмісту, особливо за реперфузії. Аналогічні зміни були зафіксовані і при вимірюванні вмісту цитруліну. Таким чином, зміни у системі оксида азоту в міокарді та плазмі крові були однонаправленими.

Потужним механізмом кардіопротекторної дії стимуляції SUR-рецепторів при ішемії-реперфузії є пригнічення окисного метаболізму за рахунок гальмування генерації АФК і АФА та попередження зниження активності ключових ферментів АОС – каталази та СОД. Про обмеження оксидативного (генерація АФК) стресу при активації SUR можуть свідчити зміни вмісту H_2O_2 і продуктів ПОЛ: ДК і МДА. Пероксид водню в основному утворюється ферментативно із супероксид-аніона за дії СОД і є маркером на окисний стрес, який розвивається при ішемії-реперфузії. Зокрема, при ішемії-реперфузії

міокарда вміст H_2O_2 в інтактній зоні, зоні ризику та некрозу збільшувався у 2,4, 5,2 та 7,2 раза відповідно, вказуючи на значне зростання генерації супероксиду. Тоді як активація SUR зменшувала пули H_2O_2 (а, отже, і генерацію супероксиду) в тих же зонах у 1,4, 2,2 та 2,8 раза. Подібні результати були отримані при дослідженні плазми крові, в якій протягом ішемії-реперфузії вміст H_2O_2 значно зростав, особливо в першу годину ішемії – у 11 разів. Водночас стимуляція SUR запобігала цьому максимально майже у 10 та 3,7 раза на 10-й хвилині ішемії та 90-й хвилині реперфузії відповідно.

Аналогічні дані отримали і за допомогою методу H_2O_2 -індукованої ХЛ, який ґрунтується на реєстрації інтенсивності випромінення, що виникає внаслідок окиснення біологічних проб H_2O_2 . При ішемії-реперфузії міокарда ХЛ за усіма кінетичними параметрами значно зростала, особливо під час реперфузії. Разом з цим стимуляція SUR в дослідях на собаках *in vivo* зменшувала загальну світлосуму ХЛ за 5 хв реєстрації (Σ_5), амплітуду швидкого спалаху ХЛ (I_0) та кінцеве значення інтенсивності випромінення через 5 хв (I_5) на 3-й годині реперфузії на 17,2, 17,2 та 14,6 % відповідно. Зниження вмісту H_2O_2 свідчить про потужну антиоксидантну дію активації SUR-рецепторів.

Підтвердженням цього може бути пригнічення утворення пулів як ранніх (ДК), так і пізніх (МДА) продуктів ПОЛ в експериментах з активацією цих рецепторів. При ішемії-реперфузії вміст ДК в інтактній зоні, зоні ризику та некрозу збільшувався у 2,1, 2,9 та 3,8 раза відповідно. Стимуляція SUR попереджувала їх утворення: в інтактній зоні їх вміст (6,8 нг/мг білка) був таким же як і за нормоксії (6,6 нг/мг білка), тоді як без їх активації пули ДК в цій зоні зростали більш ніж вдвічі (14,0 нг/мг білка). Подібні зміни відбувалося в зоні ризику та некрозу: зменшення у 2,2 та 2,3 раза відповідно. ДК утворюються при неферментативному окисненні ліпідів, а зниження їх вмісту свідчить про потужну антиоксидантну дію та інгібування утворення ініціаторів ПОЛ: $\cdot OH$ (утворюється з H_2O_2 в реакціях Фентона і Хабер-Вайса за наявності заліза) та $NO_2\cdot$ радикалів, що утворюються при радикальному розпаді пероксинітриту. Схожими виявилися результати при вимірювання пулів ДК у плазмі крові. За ішемії їх вміст стрімко

зростає (у 5-6 разів), з максимумом у першу половину реперфузії – у 7,4 раза. Активація SUR-рецепторів запобігала утворенню ДК.

Подібні зміни відбувалися із вмістом в міокарді та плазмі крові кінцевого продукту ПОЛ – МДА, який за ішемії-реперфузії збільшувався порівняно з інтактними тваринами (нормоксія) у зонах серця – інтактній, ризику та некрозу в 4,0, 5,4 у 27,1 раза відповідно. Разом з цим стимуляція SUR-рецепторів пригнічувала їх утворення в цих зонах у 2,2, 3,0 та 7,3 раза відповідно. Ішемія-реперфузія призводила до значного зростання вмісту МДА також у плазмі крові – на кінець ішемії та 60-й хвилині реперфузії він збільшувався на 62,5 та 70 % відповідно. Активація SUR повністю запобігала цьому підвищенню під час ішемії та зменшувала його при реперфузії, зокрема, на 60-й хвилині – на 31%. Отже, стимуляція SUR-рецепторів може чинити не лише антиоксидантну, але і антирадикальну дію, укорочуючи (обриваючи) ланцюги реакції ПОЛ.

Практично незмінний вміст нітрат-аніона (утворюється при розпаді пероксинітриту нерадикальним шляхом) в плазмі крові в динаміці ішемії-реперфузії може свідчити про пригнічення утворення пероксинітриту за активації SUR. Зокрема, на 180-й хвилині реперфузії вміст нітрат-аніона зростав у 2,5 раза, проте активація SUR-рецепторів значно зменшувала (максимально у 3,2 раза) це підвищення. Дійсно, за стимуляції SUR разом зі зниженням надлишкового індукцйбельного та реутилізаційного синтезу NO при ішемії-реперфузії відбувається також пригнічення генерації супероксид-аніона. Про це може свідчити зниження пулів сечової кислоти (зменшення активності ксантиноксидази) і ейкозаноїдів (LTC_4 і TxB_2), що утворюються паралельно із супероксид-радикалом його ліпідними генераторами – ліпоксигеназою і циклооксигеназою. Зокрема, вміст сечової кислоти за ішемії-реперфузії порівняно з нормоксією збільшувався у 2,1 раза (інтактна зона) та майже у 30 разів (зони ризику та некрозу).

Вперше показано, що стимуляція SUR значно зменшувала утворення сечової кислоти (а, отже, і супероксиду) – у зоні ризику у 12,5, а у зоні некрозу – у 12,8 раза. Суттєво зменшувався вміст її пулів і в плазмі крові. У низьких

концентраціях вона є водорозчинним антиоксидантом за рахунок зв'язування пероксинітриту і OH^* , у високих – вона є токсичною і зниження її вмісту може бути ще одним кардіопротекторним механізмом.

Ще одним захистним механізмом активації SUR-рецепторів може бути попередження підвищення вмісту сечовини, який в зоні ризику та некрозу при ішемії-реперфузії міокарда значно збільшується – на 68,1 % та у 3,4 раза відповідно. Адже в низьких концентраціях вона є хелатором вільного заліза, тим самим проявляючи антиоксидантні властивості внаслідок пригнічення генерації OH^* та утворення токсичного уреїдосукцинату. У процесі ішемії-реперфузії активність аргінази і вміст пулів сечовини значно зростають, передбачаючи можливість її кардіотоксичної дії. Виявлено, що стимуляція SUR-рецепторів пригнічувала її утворення в зоні ризику та некрозу на 60,7 та 71,9 % відповідно. Отже, ще одна кардіопротекторна дія може полягати у пригніченні утворення сечовини внаслідок зниження активності аргінази.

Вперше показано, що активація SUR-рецепторів калієвих каналів при ішемії-реперфузії не лише запобігає зниженню активності ключових ферментів АОС – каталази і СОД, а навіть дещо підвищує її. Зокрема, посилення процесів ПОЛ при ішемії-реперфузії серця супроводжувалося одночасним пригніченням активності каталази та СОД. А саме, на 10-й хвилині ішемії активність каталази порівняно з вихідними значеннями була зменшеною на 10,9 % та продовжувала зниження, сягаючи максимуму на кінець реперфузії – 21,4%. Активність ферменту СОД насамперед зазнавала значного зменшення під час ішемії – на 23,8 % на 90-й хвилині. Виявлено, що одним із механізмів кардіопротекції при активації SUR-рецепторів за ішемії-реперфузії є не лише попередження зниження активності цих ферментів, а навіть підвищення їх активності. Так, активність каталази та СОД на 90-й хвилині ішемії збільшувалася порівняно з вихідними значеннями на 24,2 та 24,3 % відповідно з подальшим посиленням під час реперфузії. Максимальних значень вона сягала на 60-й хвилині реперфузії та становила 58,6 та 73,4 % відповідно. Таким чином, отримані результати свідчать, що стимуляція SUR підвищує стійкість до переокисних процесів при ішемічно-

реперфузійному пошкодженні через пригнічення вільнорадикальних процесів та посилення активності ферментів антиоксидантного захисту.

Ще одним потужним кардіопротекторним механізмом стимуляції SUR-рецепторів є попередження утворення патогенних в умовах ішемії LTC₄ та TxB₂, які можуть мати коронарokonстрикторну, проаритмічну та прооксидантну дію. Зокрема, при ішемії-реперфузії в міокарді значно зростає вміст LTC₄ – в інтактній зоні, зоні ризику та некрозу він збільшувався у 31,4, 59,1 і 84,4 рази відповідно. Аналогічно збільшувався вміст TxB₂ – у 35,3 та 65,8 рази в інтактній зоні та зоні ризику, та майже на два порядки у зоні некрозу. Вперше показано, що активування SUR значно зменшувало їх утворення. Зокрема, їх вміст в інтактній зоні, ризику та некрозу зменшувався у 3,4, 2,9 та 3,8 рази для LTC₄ та у 3, 1,4 та 1,8 рази для TxB₂ відповідно. Аналогічні результати отримані і при вимірюванні вмісту їх пулів у плазмі крові в динаміці ішемії-реперфузії – стимуляція SUR зменшувала їх вміст протягом експерименту у середньому втричі. Слід зауважити, що таке попередження зростання вмісту цих ейкозаноїдів при ішемії-реперфузії міокарда, особливо LTC₄, у плазмі крові може сприяти зниженню САТ, ЗПО та констрикції коронарних судин. Це також може свідчити про зменшення активності ліпоксигенази та циклооксигенази, та відповідно, зменшення утворення АФК та АФА, зокрема супероксиданіону та периксонітриду.

Одним із важливих механізмів кардіопротекторної дії активації SUR-рецепторів при ішемії-реперфузії міокарда слід вважати мембранопротекцію, про що може свідчити зменшення вмісту вільної арахідонової кислоти, вірогідно внаслідок зменшення активності фосфоліпази A₂ та деградації фосфоліпідів мембран. Зокрема, в динаміці ішемії-реперфузії у плазмі крові значно зростає вміст пулів вільної арахідонової кислоти максимально у 6,3 рази на початок реперфузії. Активація SUR-рецепторів запобігала цьому підвищенню з максимальними ефектами протягом ішемії та реперфузії у 10 та 7,5 рази відповідно. Аналогічні результати були отримані при вимірюванні вмісту вільної арахідонової кислоти в міокарді, зокрема в інтактній зоні, зонах ризику та некрозу її вміст збільшувався у 4,0, 7,7 та 11,4 рази відповідно, тоді як стимуляція SUR

запобігала цьому, зокрема, у 1,6 (зона ризику) та 1,9 (некрозу) разів відповідно. Зменшення стрімкого наростання вмісту вільної арахідонової кислоти в міокарді та у плазмі крові при активації SUR-рецепторів за ішемії-реперфузії може свідчити про пригнічення активності фосфоліпази A_2 та зменшення деградації мембранних фосфоліпідів та, відповідно, виявляє ще один механізм кардіопротекції – мембраностабілізацію, яка була підтверджена за допомогою електронномікроскопічних досліджень.

Ще одним важливим кардіопротекторним механізмом активації цих рецепторів при ішемії-реперфузії є пригнічення деградації АТФ. Зокрема, при ішемії-реперфузії міокарда значно зростає вміст продуктів розпаду пуринових нуклеотидів: АТФ і ГТФ – ксантину, гіпоксантину та інозину в 7,4, 17,0 та 32,4 рази, та неорганічного фосфату – у 4,5, 9,2 та 15,7 рази в інтактній зоні, зоні ризику та некрозу відповідно. Подібний процес спостерігали у пробах плазми крові. Зокрема, на 90-й хвилині ішемії ці показники підвищувалися у 4,6 та 6,4 рази, на 90-й хвилині реперфузії у 14 та 11,6 рази відповідно. Показано, що активація SUR значно знижувала їх вміст в міокарді порівняно з ішемією-реперфузією. А саме, у 3,2, 2,7 та 3,2 рази для проміжних продуктів деградації АТФ та ГТФ, та у 3,6, 2,6 та 3,1 рази для неорганічного фосфату в інтактній зоні, ризику та некрозу відповідно. Аналогічне зниження відбувалося у плазмі крові – на 90-й хвилині ішемії вміст продуктів неповної деградації пуринових нуклеотидів та неорганічного фосфату порівняно з ішемією-реперфузією зменшувалися у 2,8 та 5 разів, на 180-й хвилині реперфузії у 6,1 та 3,2 рази відповідно. Попередження значного збільшення при ішемії-реперфузії вмісту неорганічного фосфату та сечової кислоти за стимуляції цих рецепторів може свідчити про пригнічення повної деградації АТФ, а, отже, і утворення як супероксиду ксантиноксидазою, так і пероксинітриту при взаємодії останнього з оксидом азоту. Варто зазначити, що при їх повній деградації втрачається можливість ресинтезу цих молекул. Отже, активація SUR-рецепторів K_{ATP} -каналів, інгібуючи ксантиноксидазу, не лише запобігає утворенню супероксиду, але і втраті пуринових основ (гіпоксантину і ксантину) для ресинтезу пуринових

нуклеотидів. Таким чином, пригнічення індукованої ішемією-реперфузією деградації молекул АТФ і ГТФ при активації SUR-рецепторів вищезгаданих каналів може бути ще одним важливим механізмом кардіопротекції.

За умов ішемії-реперфузії в кардіоміocyтах зростає деградація гему ферментом гемоксигеназою (гем = білірубін + CO + Fe), про що свідчить значне збільшення як вмісту білірубину (в інтактній зоні, зоні ризику та некрозу відповідно у 7,1, 8,3 та 9 разів), так і заліза – у 4,6 і 6,3 раза у зоні ризику та некрозу. Виявлено, що активація SUR посилювала цей процес: вміст білірубину в інтактній зоні, ризику та некрозу зростали у 8,9, 11,3 і 17,8 раза відповідно, а заліза у зоні ризику та некрозу – у 9,5 і 20,1 раза, що також може бути одним із механізмів кардіопротекції активації SUR-рецепторів, оскільки відомо про нейро- і кардіопротекторні ефекти CO.

Вперше показано, що в експериментах з аноксією-реоксигенацією ізольованих неонатальних кардіоміocyтів активація SUR-рецепторів флокаліном попереджує апоптоз та вдвічі зменшує некроз ізольованих неонатальних кардіоміocyтів. Зменшення вмісту АТФ при ішемії, з одного боку, погіршує роботу серця, з іншого, спричиняє, залежно від ступеня зниження вмісту АТФ і ГТФ у мітохондріях, апоптоз чи некроз кардіоміocyтів та ушкодження міокарда. Дійсно, в експериментах з аноксією-реоксигенацією ізольованих неонатальних кардіоміocyтів активувався некроз (у 2,8) та апоптоз (у 1,6 раза). Стимуляція SUR-рецепторів калієвих каналів спричиняла зсув співвідношення живих, некротичних та апоптотичних клітин у бік живих (відсоток яких практично не відрізнявся від контролю без аноксії-реоксигенації), вдвічі зменшувала процеси некрозу та повністю запобігала розвитку апоптозу, що був індукований аноксією-реоксигенацією. Очевидно, що попередженню цих механізмів смерті може сприяти пригнічення відкривання МП. У дослідях на ізольованих мітохондріях міокарда щурів було показано попередження кальцій-індукованого відкривання МП за активації SUR-рецепторів. Вірогідно, що кардіопротекторна дія стимуляції цих рецепторів незначним чином залежить від дихання мітохондрій в метаболічних станах V_2 , V_3 , V_4 за Чансом, проте ймовірно, визначальним для

кардіопротекції може бути незначне зменшення спряження процесів дихання та фосфорилування та швидке відновлення вмісту АТФ при реперфузії.

За допомогою морфологічних досліджень показано, що активація SUR-рецепторів при ішемії-реперфузії міокарда сприяє збереженню цілісності сарколеми, структури внутрішньоклітинних органел, зменшує контрактири міофіламентів, значною мірою попереджує деструкцію мітохондрій та зменшує розмір інфаркту міокарда на 40 %. Ішемія-реперфузія серця супроводжується значними ультраструктурними порушеннями міокарда, у більшості кардіоміоцитів спостерігалися такі зміни: конденсація ядерного хроматину, контрактири та лізис міофіламентів, набряк та деструкція мітохондрій, порушення цілісності сарколеми та ін. Це свідчить про розвиток незворотніх некротичних процесів у міокарді, які пов'язані з порушенням кардіогемодинамічних показників. Доішемична активація SUR в експериментах з ішемією-реперфузією ізольованого за Лангендорфом серця щурів значною мірою попереджувала пошкодження кардіоміоцитів: сприяла збереженню цілісності сарколеми (лантан, який при виникненні мікродефектів цитоплазматичної мембрани проникає в міоцити, в наших дослідках, за стимуляції SUR – локалізувався екстрацелюлярно) та структури внутрішньоклітинних органел, призводила до зменшення кількості контрактур міофіламентів. Крім того, активація цих рецепторів в значній мірі попереджувала деструкцію мітохондрій, що сприяло збереженню енергетичного потенціалу міокарда. Ці дані підтверджують описане вище припущення про мембраностабілізуючу дію активації SUR-рецепторів при ішемії-реперфузії

За кардіогемодинамічними, біохімічними і морфологічними показниками визначено, що оптимальними для ефективної кардіопротекції є помірна активація SUR-рецепторів. Вперше показано, що в антиішемичному захисті міокарда та відновленні роботи ішемізованого серця під час реперфузії відіграють роль як мітохондріальні, так і сарколемальні K_{ATP} -канали. Перші більшою мірою відповідають за відновлення скоротливої активності міокарда, другі, в основному, за відновлення коронарного кровообігу.

Таким чином, за допомогою молекулярно-генетичних методів вперше

проведено генотипування мешканців України щодо поширення алельних поліморфізмів генів *KCNJ11* та *ABCC8*, що кодують Kir6.2 та SUR1-рецептори K_{ATP} -каналу, та показано їх зв'язок з таким захворюванням як серцева недостатність. Виявлено зниження експресії Kir6.1, Kir6.2 та SUR2 білків у дорослих спонтанно гіпертензивних щурів (SHR) та значне зниження SUR1- та SUR2-рецепторів калієвих каналів у старих 18-місячних SHR щурів, може бути одним із механізмів декомпенсації недостатності серця.

Визначено, що захисний ефект активації SUR-рецепторів калієвих каналів реалізується за рахунок комплексних механізмів, в основі яких лежать гальмівні процеси, що включають кардіогемодинаміку і зміну метаболізму (рис. 8.1).



Рис. 8.1 Можливі кардіопротекторні механізми, що розвиваються за активації SUR-рецепторів K_{ATP} -каналів при ішемії міокарда

Вперше показано, що кардіопротекторний ефект активації SUR-рецепторів

реалізується за рахунок помірного зниження артеріального тиску, що послаблює навантаження на уражене ішемізоване серце і сприяє збереженню серцевого викиду в перші години ішемії, попередження реперфузійного підвищення загальнопериферичного опору та опору коронарних судин, відносного збереження показників скоротливості міокарда. Основними захисними змінами метаболізму є попередження значного зростання надлишкового індукційного і реутилізаційного та, навпаки, підвищення протективного конститутивного синтезу NO, значного пригнічення вільнорадикальних реакцій та попередження зниження активності ферментів АОС – каталази та СОД, зменшення утворення патогенних в умовах ішемії міокарда LTC₄ і TxV₂, пригнічення деградації АТФ та значного утворення сечовини і сечової кислоти, підвищення вмісту сфінгозину, стимуляції гемоксигеназної реакції, мембранопротекторна дія та попередження відкривання мітохондріальної пори, апоптозу і некрозу. Активація SUR-рецепторів калієвих каналів сприяє збереженню цілісності сарколеми, структури внутрішньоклітинних органел та зменшенню кількості контрактур міофіламентів, в значній мірі попереджує деструкцію мітохондрій, що сприяє збереженню енергетичного потенціалу міокарда.

ВИСНОВКИ

Захисний ефект активації SUR-рецепторів калієвих каналів реалізується за рахунок комплексних механізмів, в основі яких лежать гальмівні процеси, що включають кардіогемодинаміку і зміну метаболізму. Вперше проведено генотипування в українській популяції щодо поширення алельних поліморфізмів генів *KCNJ11* та *ABCC8*, що кодують Kir6.2 і SUR1 білки K_{ATP} -каналу, та показано їх зв'язок з таким захворюванням, як серцева недостатність. Виявлено, що у старих 18-місячних спонтанно гіпертензивних щурів значно менша експресія SUR1 і SUR2, що може бути одним із механізмів декомпенсації недостатності серця.

1. Показано, що активація SUR-рецепторів K_{ATP} -каналів спричиняє зворотну гіперполяризацію, знижує потенціал спокою, зменшує тривалість ПД та частоту скорочень кардіоміоцитів, спричиняє кардіодепресорні та вазодилататорні реакції (в т.ч. розширює коронарні судини), втричі підвищує оксигенацію крові, має виражену антиоксидантну дію, дозозалежно пригнічує утворення пероксиду водню та ДК (з максимальним ефектом у 7,2 та 6,3 раза відповідно), супероксид-аніона та пероксинітриту, підвищує активність ферменту cNOS та гальмує – iNOS (з максимумальним ефектом у 3 та 2,1 раза відповідно), зменшує утворення вільної арахідонової кислоти, як маркера активності фосфоліпази A_2 .
2. До кардіопротекторних механізмів активації SUR, що реалізуються внаслідок кардіогемодинамічних змін, можна віднести помірне зниження артеріального тиску, попередження реперфузійного підвищення загального периферичного опору і опору коронарних судин, та відносне збереження показників скоротливості міокарда в період реперфузії.
3. Вперше показано, що кардіопротекторні механізми при активації SUR можуть полягати в пригніченні надлишкового індукцйбельного та реутилізаційного (з

максимумом у 4,5 та 12,4 раза відповідно) та, навпаки, підвищенні протективного конститутивного синтезу NO (у 1,6 раза) та пригніченні деградації L-аргініну аргіназою (максимально у 11,5 раза), а також підвищенні вмісту сфінгозину (максимально у 4,7 раза), який може запускати активацію cNOS. Важливим механізмом кардіопротекції є мембранопротекція (про що свідчить зниження вмісту вільної арахідонової кислоти (максимально у 10 разів) та, відповідно, активності фосфоліпази A₂), пригнічення деградації АТФ (максимально у 5 разів) та попередження утворення патогенних за ішемії LTC₄ та TxV₂ (втричі), підвищення активності ферменту гемоксигенази. Важливим захисним механізмом є пригнічення вільнорадикальних реакцій: значне обмеження генерації активних форм кисню та азоту (супероксид-аніона (у 12 разів), H₂O₂ (максимально у 10 разів), пероксинітриту (вдвічі)), як внаслідок перекисного (зменшення ДК і МДА вдвічі-тричі), так і ферментативного (ліпоксигеназою і циклооксигеназою) окиснення ліпідів, та пригнічення активності ксантиоксидази (втричі), а також попередження утворення токсичного вмісту сечовини та сечової кислоти. При цьому активація SUR-рецепторів не лише запобігає зниженню активності ферментів АОС каталази і СОД при ішемії-реперфузії, а навіть підвищувала її (максимально на 59 та 73 % відповідно). Про її потужну антиішемічну дію може свідчити пригнічення реутилізаційного синтезу NO та підвищення вмісту нітрит-аніона.

4. За морфологічних досліджень показано, що активація SUR-рецепторів за ішемії-реперфузії міокарда сприяє збереженню цілісності сарколеми, структури внутрішньоклітинних органел, зменшує контрактири міофіламентів, значною мірою попереджує деструкцію мітохондрій та зменшує розмір інфаркту міокарда на 40 %.
5. Кардіопротекторними механізмами активації SUR-рецепторів можуть бути помірне зменшення спряження процесів окисного фосфорилування мітохондрій, попередження відкривання мітохондріальної пори, зменшення апоптозу та некрозу кардіоміоцитів.

6. Виявлено, що оптимальною для кардіопротекції є помірна активація SUR-рецепторів, а в антиішемічному захисті міокарда K_{ATP} -канали мітохондріальної мембрани більшою мірою відповідають за підтримання скоротливої активності міокарда, тоді як сарколемальної – за коронарний кровообіг.
7. Вперше вивчено поширення алельних поліморфізмів Ile337Val та Glu23Lys гена KCNJ11 та поліморфізму Ser1369Ala гена ABCC8, що кодують Kir6.2 та SUR1 відповідно у мешканців української популяції та показано, що воно практично не відрізняється від населення європейської та є близьким до азійської популяції. Виявлено, що у хворих на хронічну серцеву недостатність частота гомозигот мінорного типу є зменшеною у 1,26 (Glu23Lys та Ser1369Ala) та у 1,32 (Ile337Val) рази, що збігається з попередженням зростання маси лівого шлуночка та зниження скоротливої функції міокарда, а саме, достовірне зменшення маси лівого шлуночка та її індексу за генотипу Val/Val на 27,3 та 28,4 % відповідно, індексу маси та кінцево-діастолічного об'єму лівого шлуночка на 22,9 та 26,8 % відповідно за генотипів Lys/Lys і Ala/Ala порівняно з носіями гетерозигот.
8. Вперше показано, що порівняно зі щурами Wistar-Kyoto у дорослих спонтанно гіпертензивних щурів експресія генів, що кодують білки Kir6.1, Kir6.2 і SUR2 менша у 6,3, 20,9 і 3,9 рази відповідно, а у старих 18-місячних SHR щурів значно менша експресія SUR1 та SUR2 (у 99,5 та 48,1 рази відповідно), що може бути одним із механізмів декомпенсації недостатності серця.

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Баранов В.Г. Экспериментальный сахарный диабет / В.Г. Баранов. – Л.: Наука, 1983. – 240 с.
2. Беленічев І.Ф. Дослідження фармако-біохімічних механізмів антиоксидантної дії N-(4-хіназоліл)аміноарилкарбонових кислот та їх солей в умовах ініціювання вільно-радикальних процесів *in vitro* та моделювання ішемії головного мозку / І.Ф. Беленічев, С.І. Коваленко, В.В. Дунаєв, Н.В. Бухтіярова, В.В. Яцун // Ліки. – 2000. – №3-4. – С. 65–69.
3. Березовський В.А. Методы измерения напряжения кислорода. Напряжение кислорода в тканях животных и человека / В.А. Березовський. – К.: Наукова думка, 1975. – С. 35–63.
4. Беседіна А.С. NO-синтазна активність у пацієнтів з ішемічною хворобою серця різних вікових груп / А.С. Беседіна // Буковинський медичний вісник. – 2013. – Т.17, № 4. – С. 10–13.
5. Бурбелло А.Т. Современные лекарственные средства. Клинико-фармакологический справочник практического врача / А.Т. Бурбелло, А.В. Шабров, П.П. Денисенко. – Санк-Петербург, Москва: Нева, 2006. – 896 с.
6. Войтичук О.И. Влияние фторсодержащего активатора АТФ-зависимых калиевых каналов флокалина на возбудимость и мембранные токи кардиомиоцитов / О.И. Войтичук, Р.Б. Струтинский, А.А. Мойбенко, Я.М. Шуба // Научные труды III съезда физиологов СНГ. Физиология и здоровье человека, Ялта, Украина, 1-6 октября 2011 р., С.68.
7. Воронков Л. Вплив поліморфізмів гена KCNJ11, що кодує АТФ – чутливі калієві канали на кінцево-діастолічний об'єм та масу міокарда лівого шлуночка у хворих із систолічною хронічною серцевою недостатністю / Л. Воронков, В. Досенко, І. Мазур, Р. Струтинський // VI Конференції Української асоціації фахівців із серцевої недостатності «Хронічна серцева недостатність в Україні: пріоритетні шляхи вирішення проблеми» // Київ, 21–22 квітня 2016 р.
8. Воронков Л. Потенційна роль поліморфізму генів KCNJ11 та ABCC8, що

- кодують АТФ-чутливі калієві канали, у розвитку гіпертрофії та ремоделювання міокарда / Л. Воронков, В. Досенко, І. Мазур, Р. Струтинський // XVII національний конгрес кардіологів України // Київ, 22-23 вересня 2016р.
9. Гаврилов В.Б. Измерение диеновых конъюгатов в плазме крови по УФ-поглощению гептановых и изопропанольных экстрактов / В.Б. Гаврилов, А.Р. Гаврилова, Н.Ф. Хмара // Лаб. дело. – 1988, № 2. – С. 60–64.
 10. Горбась І.М. Фактори ризику серцево-судинних захворювань: поширеність і контроль. Медичний портал «здоров'я України» / І.М. Горбась. – опубліковано 28.03.2015. – Режим доступу: www.health-ua.com
 11. Денисюк О.М. Порівняльний вплив флокаліну та мексидолу на перебіг біоенергетичних процесів при гострій експериментальній ішемії головного мозку / О.М. Денисюк // Буковинський медичний вісник. – 2011. – Т. 15, № 1 (57). – С. 131–134.
 12. Дудка П.Ф. Чи виправдане застосування глюкозо-інсуліно-калієвої суміші при постішемичному реперфузійному синдромі / П.Ф. Дудка, Л.М. Лукасевич, Т.В. Михайлевська // Медицина неотложных состояний. – 2010. – № 1. – С. 48–50.
 13. Дудник С. Серцево-судинні захворювання в Україні: прогнози — невтішні / Світлана Дудник // Медична газета «Ваше здоров'я», Кардіологія, опубліковано 09.01.2015. – Режим доступу: www.vz.kiev.ua.
 14. Егорова М.В. Роль жирных кислот в адаптивных реакциях кардиомиоцитов при метаболической ишемии: дис. ... доктора биол. наук: 03.03.01 / Маргарита Владимировна Егорова. – Томск, 2014. – 205 с.
 15. Королюк М.А. Метод определения активности каталазы / М.А. Королюк, А.И. Иванова, И.Т. Майорова, В.Е. Токарев // Лаб. дело. – 1988. – № 1. – С. 16–19.
 16. Ленинжер А. Основы биохимии / А. Ленинжер. – в 3-х томах. – Т. 2. – пер. с англ. – М.: Мир. – 1985. – С. 508–543.
 17. Лукьянова Л.Д. Сигнальная функция митохондрий при гипоксии и адаптации / Л.Д. Лукьянова // Патогенез. – 2008. – № 3. – С. 4–12.
 18. Лукьянова Л.Д. Современные проблемы адаптации к гипоксии. Сигнальные механизмы и их роль в системной регуляции / Л.Д. Лукьянова // Патол. физиол.

- експер. терапія. – 2011. – № 1. – С. 3–19.
19. Лукьянова Л.Д. Современные проблемы гипоксии / Л.Д. Лукьянова // Вестник РАМН. – 2000. – № 11. – С. 3–12.
 20. Лупанов В.П. Протективная ишемия в кардиологии. Формы кондиционирования миокарда / В.П. Лупанов, А.В. Максименко // Кардиоваскулярная терапия и профилактика. – 2011. – Т. 10, № 1. – С. 111–119.
 21. Маньковська І. В. Мітохондрії як мішень інтервальної гіпоксії / І. В. Маньковська, Т.В. Серебровська // Фізіол. журн. – 2014. – Т. 60, № 6. – С. 75–87.
 22. Маслов Л. Н. Адаптация миокарда к ишемии. Первая фаза ишемического preconditionирования / Л.Н. Маслов, Ю.Б. Лишманов, Н.В. Соленкова. Успехи физиологических наук. – 2006. – Т. 37, № 3. – С. 25–41.
 23. Миронова Г.Д. Митохондриальный АТФ-зависимый калиевый канал. II. Роль канала в защите сердца от ишемии / Г.Д. Миронова, Е.В. Качаева, И.Б. Крилова [и др.] // Вестник Российской АМН. – 2007. – № 2. – С. 44–50.
 24. Мойбенко А.А. Лейкотриены и ишемия міокарда / А.А. Мойбенко, Ю. Н. Колчин, В. Н. Коцюруба // Кардиология. – 1991. – №5. – С. 72–82.
 25. Мойбенко А.А. Эндогенные механизмы кардиопротекции как основа патогенетической терапии заболеваний сердца / А. А. Мойбенко, В. Д. Досенко, А. Н. Пархоменко. – Київ.: Наукова думка, 2008. – 518 с.
 26. Мойбенко А.А. Эффективность водорастворимой формы кверцетина (корвитина) при лечении ОКС+СТ / А.А. Мойбенко, А.Н. Пархоменко, С.Н. Кожухов // Журнал АМН Украины. – 2003. – Т. 9, № 2. – С. 361–370.
 27. Мойбенко О.О. Возможные механизмы кардиопротекторных эффектов активации K_{ATP} каналов при ишемии-реперфузии міокарда / О.О. Мойбенко, Р.Б. Струтинський, Ю.Л. Ягупольський, О.И. Войтичук, Я.М. Шуба // Бюлетень ХХ – читань ім. В.В. Підвисоцького, 26-27 травня 2011 р., Одеса, С.135-136.
 28. Мойбенко О.О. Організація заводського виготовлення препарату Флокалін – нового вітчизняного міотропного спазмолітика і кардіопротектора / О.О.Мойбенко, Р.Б. Струтинський, Л.М. Ягупольський, М.А. Мохорт, А.С.

- Шаламай // Наука та інновації. – 2009. – Т.5, №1. – С.80-84.
29. Мойбенко О.О. Розробка та підготовка до впровадження нового вітчизняного кардіопротекторного препарату – фторвмісного активатора АТФ-залежних калієвих каналів Флокалін / О.О. Мойбенко, Р.Б. Струтинський, Л.М. Ягупольський, М.А. Мохорт // Наука та інновації. – 2006. – Т.2, №4. – С.77-82.
 30. Мойбенко О.О. Роль ендотелію та біологічно-активних речовин ендотеліального походження в регуляції кровообігу та діяльності серця / О.О. Мойбенко, В.Ф. Сагач, Л.М. Шаповал // Фізіол. журн. – 1997. – Т. 43, №1–2. – С. 3–18.
 31. Мойбенко О.О. Фундаментальні механізми дії оксиду азоту на серцево-судинну систему як основи патогенетичного лікування її захворювань / О.О. Мойбенко, В.Ф. Сагач, М.М. Ткаченко [та ін] // Фізіол. журн. – 2004. – Т. 50, №1. – С.11–30.
 32. Морозов М.А. Медицинская помощь при неотложных состояниях / М.А. Морозов. – учеб. пособие. – СПб: Дидактика, 1995. – 215 с.
 33. Нагібін В.С. Фторований аналог діазоксиду попереджає апоптоз неонатальних кардіоміоцитів під час аноксії-реоксигенації / В.С. Нагібін, В.Є. Досенко, С.М. Пивовар [та ін] // Фізіол. журн. – 2004. – Т. 50, № 3. – С. 3–8.
 34. Патент 17071А Україна, МПК⁶ А 61 К 31/03. Клебанов Б.М., І.І.Малетіна, К.І. Петко, С.С. Шаваран, Л.М.Ягупольський / N-(1,2,2-триметилпропіл)-N''-ціано-N'-арилгуанідини з фторовмісними замісниками в ароматичному ядрі, які проявляють гіпотензивну та кардіотонічну дію – № 95041977; Заяв. 26.04.95; Опубл. 31.10.97.- Промислова власність. – 1997. – №5. – С. 3.1.76.
 35. Патент України № 77344 А 61 К 31/54. Л.М. Ягупольський, І.І. Малетіна, К.І. Петко, О.О. Мойбенко, Р.Б. Струтинський, С.М. Пивовар, В.Г. Шевчук, І.М. Карвацький, К.В. Тарасова. „Дифторметиловий-3-метил-2Н1,2,4-бензотіодіозин-1,1 діоксид”. № а 2005 03296; Заяв. 11.04.2005; Опубл. 15.11.2006. – Промислова власність. – 2006. – №11.
 36. Патент України на корисну модель № 59490 А 61 К 31/00. Р.Б.Струтинський, О.О. Мойбенко, Ю.Л. Ягупольський „Спосіб зменшення розміру некротичного ушкодження міокарда при експериментальній ішемії-реперфузії міокарда”. № u

- 2011 02188; Заяв. 24.02.2011; Опубл. 10.05.2011. – Промислова власність. – 2011. – Бюл. №9.
37. Патент України на корисну модель № 64220 А 61 К 31/00. Р.Б.Струтинський, О.О. Мойбенко, Ю.Л. Ягупольський ”Спосіб зниження судинного тонуусу при артеріальній гіпертонії, гострих та хронічних коронарних синдромах” № u 2011 08580; Заяв. 08.07.2011; Опубл. 25.10.2011. – Промислова власність – 2011. – Бюл. №20.
38. Патент України на корисну модель № 71067 А 61 К 31/00. Р.Б.Струтинський, О.О. Мойбенко, Ю.Л. Ягупольський, К.І. Петко, Л.В. Безпалько, А.С. Шаламай ”Спосіб зменшення розміру зони інфаркту міокарда при експериментальній ішемії-реперфузії міокарда” № u 2012 04588; Заяв. 12.04.2012; Опубл. 25.06.2012. – Промислова власність. – 2012. – Бюл. №12.
39. Патент України на корисну модель № 91257 А 61 К 31/00. О.О.Мойбенко, Р.Б. Струтинський, Ю.Л. Ягупольський, В.Р. Струтинський, К.І. Петко ”Спосіб попередження інфаркту міокарда при експериментальній гострій ішемії-реперфузії міокарда” № u 2014 01101; Заяв. 06.02.2014; Опубл. 25.06.2014. – Промислова власність. – 2014. – Бюл. №12.
40. Патент України на корисну модель № 98022 А 61 К 31/00. Р.Б.Струтинський, Н.А. Струтинська, В.Ф. Сагач, О.О. Мойбенко, Ю.Л. Ягупольський. «Спосіб попередження кальційіндукованого відкривання мітохондріальної пори у серці» № u 2014 12691; Заяв. 26.11.2014; Опубл. 10.04.2015. – Промислова власність. – 2015. – Бюл. №7.
41. Патент України на корисну модель № 98023 А 61 К 31/00. Р.Б.Струтинський, О.О. Мойбенко, В.С. Нагібін, Ю.Л. Ягупольський. «Спосіб попередження апоптозу та некрозу за аноксії-реоксигенації ізольованих неонатальних кардіоміоцитів» № u 2014 12692; Заяв. 26.11.2014; Опубл. 10.04.2015. – Промислова власність. – 2015. – Бюл. №7.
42. Патент України на корисну модель №107758 А 61 К 31/00. Р.Б.Струтинський, О.П. Максимюк, О.О. Кришталь, В.Є. Досенко, Н.А.Струтинська, М.О. Платонов, О.М. Бойко, О.В. Васильченко «Спосіб відкривання АТФ-чутливих

- калієвих каналів сарколемальної мембрани клітин» № у 2015 11632; Заяв. 25.11.2015; Опубл. 24.06.2016. – Промислова власність. – 2016. – Бюл. №12.
43. Патент України на корисну модель №107859 А 61 К 31/00. Р.Б.Струтинський, О.П. Максимюк, О.О. Кришталь, В.Є. Досенко, Н.А.Струтинська, М.О. Платонов, О.М. Бойко, О.В. Васильченко. «Спосіб відкривання АТФ-чутливих калієвих каналів внутрішньої мембрани мітохондрій» № у 2015 12481; Заяв. 17.12.2015; Опубл. 24.06.2016. – Промислова власність. – 2016. – Бюл. №12.
44. Патент України на корисну модель №99508 А 61 К 31/00. О.О.Кришталь, О.П. Максимюк, Р.Б. Струтинський, О.О. Мойбенко, М.О.Платонов, О.М. Бойко, О.В. Васильченко. «Спосіб створення нових активаторів АТФ-залежних калієвих каналів клітинних мембран» № у 2014 13557; Заяв. 17.12.2014; Опубл. 10.06.2015. – Промислова власність. – 2015. – Бюл. №11.
45. Петрищев Н.Н. Ишемическая адаптация миокарда: патофизиологические механизмы и возможные перспективы практического применения / Н.Н. Петрищев, Е.В. Шляхто, Т.Д. Власов, М.М. Галагудза // Российский физиологический журнал им. И.М. Сеченова. – 2001. – Т. 87, № 5. – С. 688–705.
46. Пивовар С.М. Вазодилаторні ефекти нових фторвмісних аналогів діазоксиду / С.М. Пивовар, Р.Б.Струтинський, О.О. Мойбенко, Л.М. Ягупольський // Доповіді НАН України, – 2004. – №4, С.183-187.
47. Пивовар С.М. Вплив нових активаторів АТФ-чутливих калієвих каналів на окиснювальне фосфорилування мітохондрій *in vitro* / С.М. Пивовар, Р.Б. Струтинський, В.І. Коржов, О.О. Мойбенко // Клінічна та експериментальна патологія. – 2004. – Т.ІІІ, №2, Ч.1, С.55-57.
48. Пивовар С.М. Вплив фторвмісних активаторів мітохондріальних аденозинтрифосфатчутливих калієвих каналів на окисне фосфорилування / С.М. Пивовар, В.І. Коржов, Р.Б. Струтинський, Л.М. Ягупольський, О.О.Мойбенко // Фізіол. журн. – 2006. – Т.52, №3. – С. 25-33.
49. Пивовар С.М. Дослідження вазодилаторних властивостей нових фторвмісних аналогів діазоксиду / С.М. Пивовар, Р.Б. Струтинський, А.М. Шиш, О.О. Мойбенко, Л.М. Ягупольський // Конференція молодих вчених

- Інституту фізіології ім. ОО Богомольця “Фундаментальні дослідження в сучасній фізіології”, 17-20 листопада 2003, Київ, Україна: Фізіол. журн. – Т.50, №3. – С. 109-110.
50. Пивовар С.М. Дослідження механізму дії нових фторвмісних аналогів діазоксиду на судинний тонус / С.М. Пивовар, Р.Б.Струтинський, Л.М. Ягупольський, О.О. Мойбенко // Фізіол. журн. – 2004. – Т.50, № 2, С.27-34.
 51. Пивовар С.М. Дослідження протекторних властивостей фторованого активатора K_{ATP} каналів: можливі механізми захисту / С.М. Пивовар, Р.Б. Струтинський, А.М. Шиш, Л.М. Ягупольський, О.О. Мойбенко // II Міжнародна наукова конференція Гомеостаз: фізіологія, патологія, фармакологія і клініка 28-29 вересня 2005 року Одеса – Тези доповідей. С.55-58
 52. Пивовар С.Н. Изменение сосудистого тонуса при активации ATP -зависимых калиевых каналов / С.Н. Пивовар, Р.Б. Струтинский, А.А. Мойбенко, Л.М. Ягупольский // III Всероссийская с международным участием школа-конференция по физиологии кровообращения, 27-30 января 2004г., Россия, Москва: ФФМ МГУ, Тезисы докладов, 2004, С.78-79.
 53. Пивовар С.Н. Исследование влияния новых фторированных активаторов K_{ATP} каналов на деятельность сердца в норме и при ишемии-реперфузии миокарда / С.М. Пивовар, Р.Б. Струтинський, Р.А. Ровенец // «Физиология и медицина», Всероссийская конференция молодых исследователей, 14-16 апреля 2005 г., Санкт-Петербург, Россия, Вестник молодых ученых – С.115.
 54. Пивовар С.Н. Фторированные аналоги диазоксида – перспективные активаторы ATP -чувствительных калиевых каналов / С.М. Пивовар, Р.Б. Струтинський // «Биология наука XXI века» 9-тая международная пушкинская школа конференция молодых ученых 18-22 апреля 2005 года Пушкино – Сборник тезисов С.163-164.
 55. Покровский А.А. Биохимические методы исследования в клинике / А.А. Покровский. – М.: Медицина. – 1969. – 437 с.
 56. Портниченко В.И. Фазовые изменения энергетического метаболизма при периодической гипоксии / В.И. Портниченко, В.И. Носарь, А.Г. Портниченко,

- А.М. Сидоренко // Фізіол. журн. – 2012. – Т. 58. – № 4. – С. 3–12.
57. Реутов В.П. Роль оксида азота в регуляции работы миокарда цикл оксида азота и NO/синтазные системы в миокарде / В.П. Реутов, Е.А. Гоженко Е.А., В.Е. Охотин [и др.] // Актуальные проблемы транспортной медицины. – 2007. – Т. 10, № 4. – С. 89–112.
 58. Розова К.В. Вплив інтервального гіпоксичного тренування на ультраструктуру скелетних м'язів при інтенсивному фізичному навантаженні / К.В. Розова, Б.Л. Гавенаускас, І.М. Маньковська // Клінічна та експериментальна патологія. – 2004. – Т. 3, № 4. – С. 63–68.
 59. Сагач В.Ф. Старіння підвищує чутливість до індукторів мітохондріальної пори в серці щурів / В.Ф. Сагач, Г.Л. Вавілова, Н.А. Струтинська, О.В. Рудик // Фізіол. журн. – 2004. – 50. – № 2. – С. 49–63.
 60. Сакс В.А. Энергетика клеток миокарда / В.А. Сакс, Л.В. Розенштраух // Физиология кровообращения. Физиология сердца. В серии: Руководство по физиологии / под ред. Е.Б. Бабского, В.В. Ларина – Л.: Наука, 1980. – С. 36–47.
 61. Самарцев В.Н. Окислительный стресс как фактор регуляции разобщающего действия жирных кислот при участии ADP/АТР-антипортера и аспартат/глутаматного антипортера в митохондриях печени старых крыс / В.Н. Самарцев, О.В. Кожина // Биохимия. – 2008. – Т. 73. – С. 972–980.
 62. Серебровская Т.В. Гипоксия-индуцибельный фактор: роль в патофизиологии дыхания (обзор) / Т.В. Серебровская // Украинский пульмонологический журнал. – 2005. – № 3 (прил.). – С. 77–81.
 63. Сибірна Н.О. Молекулярні механізми депонування оксиду азоту в еритроцитах / Н.О. Сибірна, М.Я. Люта, Н.І. Климишин // Біологічні Студії / Studia Biologica. – 2010. – № 1. – С. 143–160.
 64. Ситіна І.В. Вміст біоенергетичних субстратів та аденілових нуклеотидів у хворих на гіпертонічну хворобу, що асоційована з цукровим діабетом 2 типу / І.В. Ситіна // Український медичний альманах. – 2012. – Т. 15, № 5. – С. 238–241.
 65. Слепнева Л.В. Механизм повреждения энергетического обмена при гипоксии

- и возможные пути его коррекции фумаратсодержащими веществами / Л.В. Слепнева, Г.А. Хмылова // Трансфузиология. – СПб. – 2013. – Т. 2. – С. 49–65.
66. Смирнов А.В. Влияние амтизола и триметазидина на процессы перекисного окисления липидов в реперфузионном периоде ишемии мозга / А.В. Смирнов, О.П. Миронова, И.В. Зарубина [и др.] // Вопр. биол., мед. и фармац. химии. – 1999. – № 2. – С. 30–33.
67. Стальная И.Д. Метод определения малонового диальдегида с помощью тиобарбитуровой кислоты / И.Д. Стальная, Т.Г. Гаришвили // Совр. методы в биохимии. Под ред. Ореховича В.Н. – М.: Медицина, 1977. – С. 66–67.
68. Струтинская Н.А. Активация митохондриальных АТФ-зависимых калиевых каналов ингибирует открывание циклоспоринчувствительной митохондриальной поры в сердце крыс / Н.А. Струтинская, Р.Б. Струтинский, В.Ф. Сагач, А.А. Мойбенко // VIII Всероссийская конференция с международным участием «Механизмы функционирования висцеральных систем», Россия, Санкт-Петербург, 25 – 28 сентября 2012г.
69. Струтинский Р.Б. Возможные механизмы кардиопротекторных эффектов активации K_{ATP} каналов флокалином при ишемии-реперфузии миокарда / Р.Б. Струтинский, О.И. Войтичук, Я.М. Шуба, А.А. Мойбенко // Пятая всероссийская школа-конференция по физиологии кровообращения, Россия, Москва, 31 января - 3 февраля 2012г.
70. Струтинский Р.Б. Возможные механизмы кардиопротекторного действия нового активатора K_{ATP} каналов препарата флокалин / Р.Б. Струтинский, А.В. Коцюруба, Н.А. Струтинская, В.С. Нагибин, А.А. Мойбенко // Российский национальный конгресс кардиологов «Кардиология: от науки – к практике», 25-27 сентября 2013 г., Россия, Санкт-Петербург, Сборник работ. – С.15-16.
71. Струтинский Р.Б. Вплив активатора аденозинтрифосфатчутливих калієвих каналів флокаліну на функціонування ізольованого серця / Р.Б. Струтинський, С.М. Пивовар, Р.А. Ровенец, О.В. Піскун, Л.М. Ягупольський, О.О. Мойбенко // Фізіол. журн. – 2005. – Т.51, № 6, С.18-24.
72. Струтинська Н.А. Нові фторвмісні активатори АТФ-чутливих калієвих каналів

- флокалін і тіофлокалін пригнічують кальційіндуковане відкривання мітохондріальної пори у серці щурів / Н.А.Струтинська, Р.Б.Струтинський, С.В. Чорна, О.М. Семенихіна, Л.А. Мись, О.О. Мойбенко, В.Ф. Сагач // Фізіол. журн. – 2013. – Т.59, №6. – С. 3-11.
73. Струтинський Р. Флокалін - новий вітчизняний кардіопротектор / Р.Б. Струтинський, М.А. Мохорт, Л.М. Ягупольський, О.О. Мойбенко // Вісник фармакології та фармації. – 2010. – №3. – С.44-56.
74. Струтинський Р.Б. Активатори K_{ATP} каналів флокалін і тіофлокалін попереджують кальційіндуковане відкривання мітохондріальної пори, апоптоз та некроз кардіоміоцитів у серці щурів / Р.Б. Струтинський, Н.А.Струтинська, В.С. Нагібін, В.Ф. Сагач // Бюлетень XV – читань ім. В.В. Підвисоцького, Одеса 2016, С.184-185.
75. Струтинський Р.Б. АТФ-чутливі калієві канали та зміни їх функціональної активності при стрептозотоцин-викликаному цукровому діабеті / Р.Б.Струтинський, О.О. Мойбенко, С.М. Пивовар, В.Є. Досенко, Л.М. Ягупольський. // Фізіол. журн. – 2003. – Т.49, №6, С.22-31.
76. Струтинський Р.Б. Вазодилаторні ефекти флокаліну – фторвмісного активатора аденозинтрифосфатчутливих калієвих каналів / Р.Б.Струтинський // Фізіол. журн. – 2010. – Т.56, №4. – С.59-65.
77. Струтинський Р.Б. Вплив активації аденозинтрифосфатчутливих калієвих каналів флокаліном на функцію серцево-судинної системи / Р.Б. Струтинський, Р.А. Ровенець, Н.А. Струтинська, О.П. Нещерет, О.О. Мойбенко // Фізіол. журн. – 2013. – Т.59, №1. – С. 11-16.
78. Струтинський Р.Б. Вплив лікарської форми флокаліну на перебіг ішемії-реперфузії міокарда / Р.Б. Струтинський, Р.А. Ровенець, О.П. Нещерет, Л.В. Тумановська, Т.М. Бойчук, Б.В. Джуран, О.О.Мойбенко // Фізіол. журн. – 2011. – Т.57, №1. – С. 55-65.
79. Струтинський Р.Б. Вплив нового активатора аденозинтрифосфатчутливих калієвих каналів флокаліну на зміни вмісту глюкози в крові в експерименті / Р.Б. Струтинський, Р.А. Ровенець, О.П. Нещерет, О.О. Мойбенко // Фізіол.

- журн. – 2010. – Т.56, №6. – С. 38-47.
80. Струтинський Р.Б. Вплив флокаліну на розвиток апоптозу та некрозу при аноксії-реоксигенації ізольованих неонатальних кардіоміоцитів / Р.Б. Струтинський, В.С. Нагібін, Н.А. Струтинська, О.Р. Янчій, О.О. Мойбенко // Фізіол. журн. – 2013. – Т.59, №3. – С. 3-9.
 81. Струтинський Р.Б. Дослідження біохімічних механізмів кардіопротекторної дії лікарської форми активатора аденозинтрифосфатчутливих калієвих каналів флокаліну за ішемії-реперфузії міокарда / Р.Б. Струтинський, А.В. Коцюруба, Р.А. Ровенець, Н.А. Струтинська, Ю.Л. Ягупольський, В.Ф. Сагач, О.О. Мойбенко // Фізіол. журн. – 2013. – Т.59, №4. – С. 16-27.
 82. Струтинський Р.Б. Дослідження кардіопротекторних ефектів нового фтормісного активатора АТФ-залежних калієвих каналів / Р.Б. Струтинський, О.О. Мойбенко, Л.М.Ягупольський [та ін.] // Фізіол. журн. – 2001. – Т. 47, № 2. – С. 16–23.
 83. Струтинський Р.Б. Ендогенні механізми кардіопротекції при активації АТФ-чутливих калієвих каналів фторвмісними активаторами / Р.Б. Струтинський, С.М. Пивовар, Р.А. Ровенець, О.О. Мойбенко // Фізіол. журн. – 2006. – Т.52, №2. – С. 99.
 84. Струтинський Р.Б. Зміни метаболізму в міокарді при ішемії-реперфузії та активації аденозинтрифосфатчутливих калієвих каналів / Р.Б. Струтинський, А.В. Коцюруба, О.П. Нещерет, Р.А. Ровенець, О.О.Мойбенко // Фізіол. журн. – 2012. – Т.58, №1. – С. 13-26.
 85. Струтинський Р.Б. Кардіопротекторні ефекти активації аденозинтрифосфатзалежних калієвих каналів в експериментах *in vivo*: вплив на біохімічні параметри крові за умов ішемії-реперфузії міокарда / Р.Б. Струтинський, А.В. Коцюруба, О.П. Нещерет, А.М. Шиш, Р.А. Ровенець, О.О. Мойбенко // Фізіол. журн. – 2009. – Т.55, №6. – С.12-19.
 86. Струтинський Р.Б. Кардіопротекторні ефекти лікарської форми нового вітчизняного активатора K_{ATP} каналів флокаліна / Р.Б. Струтинський, О.О. Мойбенко, А.В. Коцюруба, В.В. Даценко, Р.А. Ровенець // Бюлетень VI читань

- ім. В.В. Підвисоцького, присвячених до 150-річчя з дня народження. Одеса, 31 травня – 1 червня. – 2007. – С.112-113.
87. Струтинський Р.Б. Кардіопротекторні ефекти лікарської форми фторвмісного активатора аденозинтрифосфатчутливих калієвих каналів флокаліну / Р.Б. Струтинський // Фізіол. журн. – 2009. – Т.55, №4. – С.83-90.
 88. Струтинський Р.Б. Кардіопротекторні ефекти флокаліну в експериментах *in vivo*: вплив на гемодинаміку та ураження міокарда за умов його ішемії-реперфузії / Р.Б. Струтинський, О.П. Нещерет, Л.В. Тумановська, Р.А. Ровенець, О.О. Мойбенко // Фізіол. журн. – 2009. – Т.55, №5. – С.9-16.
 89. Струтинський Р.Б. Кардіопротекторні ефекти флокаліну: відносна роль активації сарколемальних та мітохондріальних аденозинтрифосфатзалежних калієвих K_{ATP} каналів / Р.Б. Струтинський, С.Н. Пивовар, Л.В. Тумановська, О.О. Мойбенко // Фізіол. журн. – 2008. – Т.54, №6. – С.15-23.
 90. Струтинський Р.Б. Механізми кардіопротекторної дії вітчизняного активатора K_{ATP} каналів Флокаліну / Р.Б. Струтинський, Р.А. Ровенець, О.О.Мойбенко // Таврический медико-биологический вестник. – 2012. – Т.15, №3, ч.2(59). – С.226-229.
 91. Струтинський Р.Б. Моделювання активності АТФ-залежних калієвих каналів у аорті нормотензивних та гіпертензивних тварин / Р.Б. Струтинський, О.О. Мойбенко // Фізіол. журн. – 2000. – Т. 46, № 6. – С. 54–60.
 92. Струтинський Р.Б. Моделювання промислового процесу виробництва препарату “Флокалін” та визначення його оптимально-ефективної дози для лікування захворювань серця / Р.Б. Струтинський, О.О.Мойбенко, В.А. Чебанов, М.Ю. Горобець // Наука та інновації. – 2013. – Т.9, №1. С.55-63.
 93. Струтинський Р.Б. Основні кардіопротекторні ефекти нового вітчизняного фторвмісного активатора K_{ATP} каналів – препарату Флокалін / Р.Б. Струтинський // Медична гідрологія і реабілітація. – 2009. – Т.7, №4. – С.4-12.
 94. Струтинський Р.Б. Основні механізми кардіопротекторних ефектів флокаліна / Р.Б. Струтинський, О.О. Мойбенко. // Бюлетень VIII –читань ім. В.В. Підвисоцького, 28-29 травня 2009 р., Одеса, С.188-189.

95. Струтинський Р.Б. Поширення алельних поліморфізмів генів, що кодують субодиниці K_{ATP} каналів (Phe₃₃₇→Val та Glu₂₃→Lys гена KCNJ11 та Ser₁₃₆₉→Ala гена ABCC8) в українській популяції / Р.Б. Струтинський, Р.А. Ровенець, О.В. Сваричевський, В.Є. Досенко // Фізіол. журн. – 2017. – Т.63, №3. – С. 3–11.
96. Струтинський Р.Б. Розроблення нових активаторів АТФ-чутливих калієвих каналів клітинних мембран / Р.Б. Струтинський, Н.А. Струтинська, О.П. Максимюк, М.О. Платонов, О.М. Бойко, О.В. Васильченко, І.М.Федянович, В.Є. Досенко, О.О. Кришталь // Наука та інновації. – 2016. – Т.12, №4 – С. 37-47.
97. Струтинський Р.Б. Роль сарколемальних та мітохондріальних K_{ATP} каналів в розвитку фармакологічного прекодиціювання ізолюваного серця морської свинки / Р.Б.Струтинський // Проблемы, достижения и перспективы развития медико-биологических наук и практического здравоохранения. Труды Крымского государственного университета им. С.И. Георгиевского. – 2006. – Т.142, часть III. – Ст.251-252.
98. Хмиль Н.В. Изучение влияния флокалина на дыхание и калиевый транспорт митохондрий сердца и печени крыс / Н.В. Хмиль, О.С. Горбачёва, Р.Б. Струтинский, М.О. Коробейникова, Н.В. Белослудцева, О.В. Коломыткин, Г.Д. Миронова // Биофизика (Biofizika). – 2016, Т. 61, № 5, С. 884–8.
99. Чевари С. Роль супероксиддисмутазы в окислительных процессах клетки и метод определения ее в биологических материалах / С. Чевари, И. Чаба, Й. Секей // Лаб. дело. – 1985. – № 11. – С. 678–681.
100. Шаров В.Г. Возможные механизмы гибели кардиомиоцитов / В.Г. Шаров // Архив патологии. – 1985. – Т. 47, № 3. – С. 3–13.
101. Шугалей В.С. Содержание мочевины и активность аргиназы в органах крыс при акклиматизации к холоду / В.С. Шугалей, А.С. Козина // Физиол. журн. СССР. –1977. – № 8. – С. 1199–1202.
102. Ягупольский Л.М. Аналоги активатора калиевых каналов диазоксида содержащие дифторметокси и трифторметокси группы / Л.М. Ягупольский, И.И. Малетина, К.И. Петко, О.Н. Денисенко, А.А. Мойбенко, Р.Б. Струтинский,

- С.Н. Пивовар, Е.В. Тарасова // Журнал органічної та фармацевтичної хімії. – 2008. – Т.6, випуск 2 (22). – С. 37-47.
103. Aguilar-Bryan L. Cloning of the beta cell high-affinity sulfonylurea receptor: a regulator of insulin secretion / L. Aguilar-Bryan, C.G. Nichols, S.W. Wechsler, J.P. Clement [et al.] // Science. – 1995. – V. 268. – P. 423–426.
 104. Alekseev A.E. ATP-sensitive K^+ channel channel/enzyme multimer: Metabolic gating in the heart / A.E. Alekseev, D.M. Hodgson, A.B. Karger [et al.] // J. Mol. Cell. Cardiology. – 2005. – V. 38. – P. 895–905.
 105. Alekseev A.E. Sarcolemmal ATP-sensitive K^+ channels control energy expenditure determining body weight / A.E. Alekseev, S. Reyes, S. Yamada [et al.] // Cell. Metab. – 2010. – V. 11, № 1. – P. 58–69.
 106. Alizadeh A.M. Oxytocin protects cardiomyocytes from apoptosis induced by ischemia-reperfusion in rat heart: role of mitochondrial ATP-dependent potassium channel and permeability transition pore / A.M. Alizadeh, M. Faghihi, V. Khorrami, H. Sohanaki, K. Pourkhalili, F. Mohammadghasemi, M. Mohsenikia // Peptides. – 2012. – V. 36, № 1. – P. 71–77.
 107. Allen D.G. Intracellular calcium and myocardial function during ischemia / D.G. Allen, S.P. Cairns, S.E. Turvey, J.A. Lee // Adv. Exp. Med. Biol. – 1993. – Vol. 9. – P. 19–29.
 108. Alzheimer C, Ten Bruggencate G. Actions of BRL 34915 (Cromakalim) upon convulsive discharges in guinea pig hippocampal slices / C. Alzheimer, G. Ten Bruggencate // Naunyn Schmiedeberg's Arch. Pharmacol. – 1988. – V. 337. – P. 429–434.
 109. Anastacio M.M. Relationship between mitochondrial matrix volume and cellular volume in response to stress and the role of ATP-sensitive potassium channel / M.M. Anastacio, E.M. Kanter, C.M. Makepeace, A.D. Keith, H. Zhang, R.B. Schuessler, C.G. Nichols, J.S. Lawton // Circulation. – 2013. – V. 10. – V. 128, № 11, Suppl 1. – P. S130-135.
 110. Andersson K.E. Urinary bladder contraction and relaxation: physiology and pathophysiology / K.E. Andersson, A. Arner // Physiol. Rev. – 2004. – V. 84. – P.

- 935–986.
111. Andrukhiv A. Opening mitoK_{ATP} increases superoxide generation from Complex I of the electron transport chain / A. Andrukhiv, A.D. Costa, I.C. West, K.D. Garlid // *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* – 2006. – V. 291, № 5. – P. H2067-2074.
 112. Angerbach D. Enhancement of muscle blood cell flux and pO₂ by cromakalim (BRL 34915) and other compounds enhancing membrane K⁺ conductance, but not by Ca²⁺ antagonists or hydralazine, in an animal model of occlusive arterial disease / D. Angerbach, C.D. Nicholson // *Naunyn Schmiedebergs Arch. Pharmacol.* – 1988. – V. 337. – P. 341–346.
 113. Antoine M.H. Mechanical and ionic response of rat aorta to diazoxide / M.H. Antoine, G. Berkenboom, Z.Y. Fang, J. Fontaine, A. Herchuelz, P. Lebrum // *Eur. J. Pharmacol.* – 1992. – V. 216, № 2. – P. 299–306.
 114. Ardehali H. Cardioprotective role of the mitochondrial ATP-binding cassette protein 1 / H. Ardehali, B. O'Rourke, E. Marbn // *Circ. Res.* – 2005. – V. 97. – P. 740–742.
 115. Ardehali H. Multiprotein complex containing succinate dehydrogenase confers mitochondrial ATP-sensitive K⁺ channel activity / H. Ardehali, Z. Chen, Y. Ko, R. Mejna-Alvarez, E. Marbón // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* – 2004. – V. 101. – P. 11880–11885.
 116. Ashcroft F.M. ATP-sensitive K⁺ channels and disease: from molecule to malady / F.M. Ashcroft // *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* – 2007. – V. 293. – P. E880–E889.
 117. Ashcroft F.M. ATP-sensitive potassium channelopathies: focus on insulin secretion / F.M. Ashcroft // *J. Clin. Invest.* – 2005. – V. 115. – P. 2047–2058.
 118. Ashcroft F.M. Correlating structure and function in ATP-sensitive K⁺ channels / F.M. Ashcroft, F.M. Gribble // *Trends Neurosci.* – 1998. – V. 21, № 7. – P. 288–294.
 119. Ashrafian H. Hypertrophic cardiomyopathy: a paradigm for myocardial energy depletion / H. Ashrafian, C. Redwood, E. Blair, H. Watkins // *Trends. Genet.* – 2003. – V. 19, № 5. – P. 263–268.
 120. Avkiran M. Na⁺/H⁺ exchange in ischemia, reperfusion and preconditioning / M.

- Avkiran, G. Gross, M. Karmazyn [et al.] // Cardiovas. Res. – 2001. – V. 9. – P. 162–166.
121. Babsky A. Influence of ischemic preconditioning on intracellular sodium, pH, and cellular energy status in isolated perfused heart / A. Babsky, S. Hekmatyar, S. Wehrli, N. Doliba, M. Osbakken, N. Bansal // Exp. Biol. Med. (Maywood). – 2002. – V. 227, № 7. – P. 520-528.
122. Baines C.P. Ischemic preconditioning depends on interaction between mitochondrial K_{ATP} channels and actin cytoskeleton / C.P. Baines, G.S. Liu, M. Birincioglu, S.D. Crits, M.V. Cohen, J.M. Downey // Am. J. Physiol. – 1999. – V. 276, № 4. – P. H1361-H1368.
123. Baines C.P. Oxygen radicals released during ischemic preconditioning contribute to cardioprotection in the rabbit myocardium / C.P. Baines, M. Goto, J.M. Downey // J. Mol. Cell. Cardiol. – 1997. – V. 29, № 1. – P. 207-216.
124. Baines C.P. The mitochondrial permeability transition pore and ischemia-reperfusion injury / C.P. Baines // Basic. Res. Cardiol. – 2009. – V. 9. – P. 181–188.
125. Balaban R.S. Cardiac energy metabolism homeostasis: role of cytosolic calcium / R.S. Balaban // J. Mol. Coll. Cardiol. – 2002. – V. 34. – P. 1259-1271.
126. Barsukevich V. Distinct cardioprotective mechanisms of immediate, early and delayed ischaemic postconditioning / V. Barsukevich, M. Basalay, J. Sanchez [at al.] // Basic. Res. Cardiol. – 2015. – V. 110, № 1. – P. 452–462.
127. Baukrowitz N. PIP2 and PIP as determinants for ATP inhibition of K_{ATP} channels / N. Baukrowitz, U. Shulte, D. Oliver [at al.] // Science. – 1998. – V. 282. – P. 1141–1144.
128. Baxter G.F. ATP-sensitive K_1 channels mediate the delayed cardioprotective effect of adenosine A_1 receptor activation / G.F. Baxter, D.M. Yellon // J. Mol. Cell. Cardiol. – 1999. – V. 31. – P. 981–989.
129. Beech D.J. K channel activation by nucleotide diphosphates and its inhibition by glibenclamide in vascular smooth muscle cells / D.J. Beech, H. Zhang, K. Nakao, T.B. Bolton // Br. J. Pharmacol. – 1993. – V. 110, № 2. – P. 573–582.
130. Belisle E. Opening of mitochondrial K^+ channels increases ATP levels by

- preventing hydrolysis / E. Belisle, A.J. Kowaltowski // J. Bioenerg. Biomembr. – 2002. – V. 34. – P. 285–298.
131. Bella A.J. Intracavernous pharmacotherapy for erectile dysfunction / A.J. Bella, G.B. Brock. – Endocrine. – 2004. – V. 23. – P. 149–155.
132. Benndorf K. Role of Cardiac K_{ATP} Channels During Anoxia and Ischemia / K. Benndorf, S. Thierfelder, B. Doeffer, G. Gebhardt, H. Hirche // News Physiol. Sci. – 1997. – V. 12, № 4. – P. 78–83.
133. Bernardo N.L. Delayed ischemic preconditioning is mediated by opening of ATP-sensitive potassium channels in the rabbit heart / N.L. Bernardo, M. D'Angelo, S. Okubo, A. Joy, R.C. Kukreja // Am. J. Physiol. – 1999. – V. 276. – P. H1323–H1330.
134. Bertrand M.E. Management of acute coronary syndromes in patients presenting without persistent ST-segment elevation. The task force on the management of acute coronary syndromes of the European society of cardiology / M.E. Bertrand, M.L. Simoons, K.A. Fox [et al.] // Eur. Heart J. – 2002. – V. 23. – P. 1809–1840.
135. Bessman S. P. Transport of energy in muscle: the phosphorylcreatine shuttle / S.P. Bessman, P.J. Geiger // Science. – 1981. – V. 211 – P. 448–452.
136. Bhatnagar A. Modulation of K_{ATP} channels to protect the ischemic myocardium: Clinical implications / A. Bhatnagar, R. Bolli // Exp. Clin. Cardiol. – 1999. – V. 4, № 1. – P. 20–22.
137. Bienengraeber M. ABCC9 mutations identified in human dilated cardiomyopathy disrupt catalytic K_{ATP} channel gating / M. Bienengraeber, T.M. Olson, V.A. Selivanov [et al.] // Nat. Genet. – 2004. – V. 36. – P. 382–387.
138. Biervert C. A potassium channel mutation in neonatal human epilepsy / C. Biervert, B.C. Schroeder, C. Kubisch [et al.] // Science. – 1998. – V. 279. – P. 403–406.
139. Block F. Delayed treatment with rolipram protects against neuronal damage following global ischemia in rats / F. Block, A. Tondar, W. Schmidt, M. Schwarz // Neuroreport. – 1997. – V. 8, №17. – P. 3829–3832.
140. Blondeau N. K -ATP channel openers, adenosine agonists and epileptic preconditioning are stress signals inducing hippocampal neuroprotection / N.

- Blondeau, H. Plamondon, C. Richelme, C. Heurteaux, M. Lazdunski // *Neurosci.* – 2000. – V.100. – P. 465–474.
141. Boden G. Free fatty acids and insulin secretion in humans / Boden G. // *Curr. Diab. Rep.* – 2005. – V.5, № 3. – P. 167–170
142. Bolli R. The Late Phase of Preconditioning / R. Bolli // *Circ. Res.* – 2000. – V. 87. – P. 972–983.
143. Bonev A.D. ATP-sensitive potassium channels in smooth muscle cells from guinea-pig urinary bladder / A.D. Bonev, M.T. Nelson // *Am. J. Physiol.* – 1993. – V. 264 (Cell Physiol. 33), № 5. – P. C1190–C1200.
144. Bonfanti D.H. ATP-dependent potassium channels and type 2 diabetes mellitus / D.H. Bonfanti, L.P. Alcazar, P.A. Arakaki, L.T. Martins, B.C. Agustini, F.G. de Moraes Rego, H.R. Frigeri // *Clin. Biochem.* – 2015. – V. 48(7–8). – P. 476–482.
145. Bouchard J.F. Decrease of vascular response to iloprost in diabetic rats / J.F. Bouchard, E.C. Dumont, D. Lamontagne // *Arch. Mal. Coeur. Vaiss.* – 1997. – V. 90, № 8. – P. 1071–1074.
146. Bouchard J.F. Modification of vasodilator response in streptozotocin-induced diabetic rat / J.F. Bouchard, E.C. Dumont, D. Lamontagne // *Can. J. Physiol. Pharmacol.* – 1999. – V. 77, № 12. – P. 980–985.
147. Boyde T.R. Optimization of conditions for the colorimetric determination of citrulline, using diacetyl monoxime / T.R. Boyde, M. Rahmatullah // *Anal. Biochem.* – 1980. – V. 107, № 2. – P. 424–431.
148. Braunwald E. ACC/AHA guidelines for the management of patients with unstable angina and non ST-elevation myocardial infarction: executive summary and recommendations. A report of the american college of cardiology / E. Braunwald, E. M. Antman, N. H. Brooks [et al.] // American Heart Association task force on practice guidelines (committee on management of patients with unstable angina) // *Circulation.* – 2000. – V. 102. – P. 1193–1209.
149. Brennan S. Early opening of sarcolemmal ATP-sensitive potassium channels is not a key step in PKC-mediated cardioprotection / S. Brennan, R. Jackson, M. Patel [et al.] // *J. Mol. Cell. Cardiol.* – 2015. – V. 79. – P. 42–53.

150. Buchheit K.H. KCO912: a potent and selective opener of ATP-dependent potassium K(ATP) channels which suppresses airways hyperreactivity at doses devoid of cardiovascular effects / K.H. Buchheit, P.W. Manley, U. Quast [et al.] // *Naunyn Schmiedebergs Arch. Pharmacol.* – 2002. – V. 365. – P. 220–230.
151. Budas G.R. Hypoxia-induced preconditioning in adult stimulated cardiomyocytes is mediated by the opening and trafficking of sarcolemmal K_{ATP} channels / G. R. Budas, S. Jovanović, R.M. Crawford, A. Jovanović // *FASEB J.* – 2004. – V. 18. – P. 1046–1048.
152. Buhl A.E. Potassium channel conductance as a control mechanism in hair follicles / A.E. Buhl, S.J. Conrad, D.J. Waldon, M.N. Brunden // *J. Invest. Dermatol.* – 1993. – V. 101. – P. 148S–152S.
153. Cameron N.E. Impaired contraction and relaxation in aorta from streptozotocin-diabetic rats: role of polyol pathway / N.E. Cameron, M.A. Cotter // *Diabetologia.* – 1992. – V. 35, № 1. – P. 1011–1019.
154. Campbell J.D. Potassium channel regulation / J.D. Campbell, M.S. Sansom, F.M. Ashcroft // *EMBO Rep.* – 2003. – V. 4, №1. – P.1038–1042.
155. Campbell V.C. The role of minoxidil on endogenous opioid peptides in the spinal cord: a putative co-agonist relationship between K-ATP openers and opioids / V.C. Campbell, S.P. Welch // *Eur. J. Pharmacol.* – 2001. – V. 417. – P. 91–98.
156. Carmines P.K. Renal arteriolar contractile responses to angiotensin II in rats with poorly controlled diabetes mellitus / P.K. Carmines, K. Ohishi // *Clin. Exp. Pharmacol. Physiol.* – 1999. – V. 26, № 11. – P.877–882.
157. Carr R.D. NN414, a SUR1/Kir6.2-selective potassium channel opener, reduces blood glucose and improves glucose tolerance in the VDF Zucker rat / R.D. Carr, C.L. Brand, T.B. Bodvarsdottir, J.B. Hansen, J. Sturis // *Diabetes.* – 2003. – V. 52. – P. 2513–2518.
158. Carrasco A.J. Adenylate kinase phosphotransfer communicates cellular energetic signals to ATP-sensitive potassium channels / A.J. Carrasco, P. Dzeja, A.E. Alekseev // *Proc. Acad. Natl. Sci. USA.* – 2001. – V. 98. – P. 7623–7628.
159. Cavallini G. Minoxidil versus nitroglycerin: a prospective doubleblind controlled

- trial in transcutaneous erection facilitation for organic impotence / G. Cavallini // J. Urol. – 1991. – V. 146. – P. 50–53.
160. Chance B. The respiratory chain and oxidative phosphorylation / B. Chance, G.R. Williams // Adv. Enzymol. – 1956. – V. 17. – P. 65–134.
161. Chi X. Potassium channel openers prevent beta-amyloid toxicity in bovine vascular endothelial cells / X. Chi, E.T. Sutton, G. Hellermann, J.M. Price // Neurosci. Lett. – 2000. – V. 290. – P. 9–12.
162. Chin S.Y. Increased activity and expression of Ca^{2+} -dependent NOS in renal cortex of ANG II-infused hypertensive rats / S.Y. Chin, K.N. Pandey, S.J. Shi [et al.] // Amer. J. Physiol. – 1999. – V. 277, № 5. – P. 797–804.
163. Chuprina A. Drug-and lead-likeness, target class, and molecular diversity analysis of 7.9 million commercially available organic compounds provided by 29 suppliers / A. Chuprina, O. Lukin, R. Demoiseaux, A. Buzko, A. Shivanyuk // J. Chem. Inf. Model. – 2010. – V. 50, №4. – P. 470–479.
164. Chutkow W.A. Episodic coronary artery vasospasm and hypertension develop in the absence of SUR2 K_{ATP} channels / W.A. Chutkow, J. Pu, M.T. Wheeler, T. Wada, J.C. Makielski, C.F. Burant, E.M. McNally // J. Clin. Invest. – 2002. – V. 110, №2. – P. 203–208.
165. Chutkow W.A. Alternative splicing of sur2 Exon 17 regulates nucleotide sensitivity of the ATPsensitive potassium channel / W.A. Chutkow, J.C. Makielski, D.J. Nelson, C.F. Burant, Z. Fan // J. Biol. Chem. – 1999. – V. 274. – P. 13656–13665.
166. Chutkow W.A. Cloning, tissue expression, and chromosomal localization of SUR2, the putative drugbinding subunit of cardiac, skeletal muscle, and vascular K_{ATP} channels / W.A. Chutkow, M.C. Simon, M.M. Le Beau, C.F. Burant // Diabetes. – 1996. – V. 45. – P. 1439–1445.
167. Cifelli C. Contractile dysfunctions in ATP-dependent K^{+} channel-deficient mouse muscle during fatigue involve excessive depolarization and Ca^{2+} influx through L-type Ca^{2+} channels / C. Cifelli, L. Boudreault, B. Gong, J.P. Bercier, J.M. Renaud // Exp. Physiol. – 2008. – V. 93. – P. 1126–1138.

168. Clapp L.H. ATP-sensitive K⁺ channels regulate resting potential of pulmonary arterial smooth muscle cells / L.H. Clapp, A.M. Gurney // *Am. J. Physiol.* – 1992. – V. 262. – P. H916–H920.
169. Clapp L.H. Properties of the ATP-sensitive K⁺ current activated by levcromakalim in isolated pulmonary arterial myocytes / L.H. Clapp, A.M. Gurney, N.B. Standen, P.D. Langton // *J. Membr. Biol.* – 1994. – V. 140, № 3. – P. 205–213.
170. Clark J.E. Cardioprotective actions by a water-soluble carbon monoxide-releasing molecule / J.E. Clark, P. Naughton, S. Shurey, C.J. Green, T.R. Johnson, B.E. Mann, R. Foresti, R. Motterlini // *Circ. Res.* – 2003. – V. 25; 93, № 2. – P. e2–e8.
171. Coceani F. Carbon monoxide in vasoregulation: The promise and the challenge / F.Coceani // *Circ. Res.* – 2000. – V. 86, № 12. – P. 1184–1186.
172. Coetzee W.A. Multiplicity of effectors of the cardioprotective agent, diazoxide / W.A. Coetzee // *Pharmacol. Ther.* – 2013. – V. 140, № 2. – P. 167–175.
173. Conte D. In vivo and in vitro iron replaced zinc finger generates free radicals and causes DNA damage / D. Conte, K. S. Narindrasorasa, B. Sarkar // *Eur. J. Biochem.* - 1996. – V. 271, №9. – P.5125–5130.
174. Cosby K. Nitrite reduction to nitric oxide by deoxyhemoglobin vasodilates the human circulation / K. Cosby, K.S. Partovi, J.H. Crawford // *Nature medicine.* – 2003. – V. 9, № 12. – P. 1498–1505.
175. Costa AD. The direct physiological effects of mitoK(ATP) opening on heart mitochondria / A.D. Costa, C.L. Quinlan, A. Andrukhiv, I.C. West, M. Jaburek, K.D. Garlid // *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* – 2006. – 290(1). – P.406–415.
176. Crawford R. M. Creatine kinase is physically associated with the cardiac ATP-sensitive K⁺ channel in vivo / R.M. Crawford, H.J. Ranki, C.H. Booting, G.R. Budas, A. Jovanović // *FASEB J.* – 2002. – V. 16. – P. 102-104.
177. Crawford R.M. Chronic mild hypoxia protects heart-derived H9c2 cells against acute hypoxia/reoxygenation by regulating expression of the SUR2A subunit of the ATP-sensitive K⁺ channels / R.M. Crawford, S. Jovanović, G.R. Budas // *J. Biol. Chem.* – 2003. – V. 278. – P. 31444–31455.
178. Crawford R.M. M-LDH serves as a sarcolemmal K_{ATP} channel subunit essential for

- cell protection against ischemia / R.M.Crawford, G.R. Budas, S. Jovanović, H. J. Ranki, T. J. Wilson, A.M. Davies, A. Jovanović // *EMBO J.* – 2002. – V. 21. – P. 3936–3948.
179. Crestanello J.A. Ischemic preconditioning improves mitochondrial tolerance to experimental calcium overload / J.A. Crestanello, N.M. Doliba, A.M. Babsky, N.M. Doliba, K. Niibori, G.J.Whitman, M.D. Osbakken // *J. Surg. Res.* – 2002. – V. 103, № 2. – P. 243–251.
180. Crestanello J.A. Mitochondrial function during ischemic preconditioning / J.A. Crestanello, N.M. Doliba, A.M. Babsky, N.M. Doliba, K. Niibori, M.D. Osbakken, G.J.Whitman // *Surgery.* – 2002. – V. 131, № 2. – P. 172–178.
181. Das A. Cyclic GMP-dependent protein kinase 1alpha attenuates necrosis and apoptosis following ischemia/reoxygenation in adult cardiomyocyte / A. Das, A. Smolenski, S.M. Lohmann, R.C. Kukreja // *J. Biol. Chem.* – 2006. – V. 281, № 50. – P. 38644–38652.
182. Das B. Cardiomyocyte mitochondrial KATP channels participate in the antiarrhythmic and antiinfarct effects of KATP activators during ischemia and reperfusion in an intact anesthetized rabbit model / B. Das, C. Sarkar // *Pol. J. Pharmacol.* – 2003. – V. 55, № 5. – P. 771–786.
183. Das B. MitochondrialKATP channel activation is important in the antiarrhythmic and cardioprotective effects of non-hypotensive doses of nicorandil and cromakalim during ischemia/reperfusion: a study in an intact anesthetized rabbit model / B. Das, C. Sarkar // *Pharmacol. Res.* – 2003. – V. 47. – P. 447–461.
184. Das B. Pharmacological preconditioning by levosimendan is mediated by inducible nitric oxide synthase and mitochondrial KATP channel activation in the in vivo anesthetized rabbit heart model / B. Das, C. Sarkar // *Vascul. Pharmacol.* – 2007. – V. 47, № 4. – P. 248–256.
185. de Araujo E.D. Successful development and use of a thermodynamic stability screen for optimizing the yield of nucleotide binding domains / E.D. de Araujo, V. Kanelis // *Protein. Expr. Purif.* – 2014. – V. 103. – P. 38–47.
186. Delaney J.T. A KCNJ8 mutation associated with early repolarization and atrial

- fibrillation / J.T. Delaney, R. Muhammad, M.A. Blair, K. Kor, F.A. Fish, D.M. Roden, D. Darbar // *Europace*. – 2012. – V. 14. – P. 1428–1432.
187. Di Lisa F. The mitochondrial permeability transition pore and cyclophilin D in cardioprotection / F. Di Lisa, A. Carpi, V. Giorgio, P. Bernardi // *Biochim. Biophys. Acta*. – 2011. – V. 1813, № 7. – P. 1316–1322.
188. Dick G.M. Role of potassium channels in coronary vasodilation / G.M. Dick, J.D. Tune // *Exp Biol Med* (Maywood). – 2010. – V. 235, № 1. – P. 10–22.
189. Diehlmann A. KATP channels in mesenchymal stromal stem cells: strong up-regulation of Kir6.2 subunits upon osteogenic differentiation / A. Diehlmann, S. Bork, R. Saffrich, R.W. Veh, W. Wagner, C. Derst // *Tissue Cell*. – 2011. – V. 43, № 5. – P. 331–336.
190. Du M. Renalase is a novel target gene of hypoxia-inducible factor-1 in protection against cardiac ischaemia-reperfusion injury / M. Du, K. Huang, D. Huang [et al.] // *Cardiovasc. Res*. – 2015. – V. 1; 105, № 2. – P. 182–191.
191. Du Q. Overexpression of SUR2A generates a cardiac phenotype resistant to ischemia / Q Du, S. Jovanović, A. Clelland [et al.] // *FASEB J*. – 2006. – V. 20, № 8. – P. 1131–1141.
192. Duan R. Mutational analysis of the Kir6.1 gene in Chinese hypertensive patients treated with the novel ATP-sensitive potassium channel opener iptakalim / R. Duan, W. Cui, H. Wang // *Exp. Ther. Med*. – 2011. – V. 2. – P. 757–760.
193. Duan R.F. Association of the antihypertensive response of iptakalim with KCNJ11 (Kir6.2 gene) polymorphisms in Chinese Han hypertensive patients / R.F. Duan, W.Y. Cui, H. Wang // *Acta Pharmacol. Sin*. – 2011. – V. 32, № 8. – P. 1078–1084.
194. Dudzinski D.M. The regulation and pharmacology of endothelial nitric oxide synthase / D.M. Dudzinski, J. Igarashi, D. Greif [et al.] // *Ann. Rev. Pharmacol. Toxicol*. – 2006. – V. 46. – P. 232–276.
195. Dumas J.P. Hypoxic pulmonary vasoconstriction / J.P. Dumas, M. Bardou, F. Goirand, M. Dumas // *Gen. Pharmacol*. – 1999. – V. 33. – P. 289–297.
196. Dunne M.J. Hyperinsulinism in infancy: from basic science to clinical disease / M.J. Dunne, K.E. Cosgrove, R.M. Shepherd, A. Aynsley-Green, K.J. Lindley //

- Physiol. Rev. – 2004. – V. 84. – P. 239–275.
197. Dunne M.J. Nature's K_{ATP} channels knockout / M.J. Dunne, A. Aynsley-Green, K.J. Lindley // *News Physiol. Sci.* – 1997. – V. 12, № 5. – P. 197–203.
 198. Duvic M. A randomized trial of minoxidil in chemotherapy-induced alopecia / M. Duvic, N.A. Lemak, V. Valero [et al.] // *J. Am. Acad. Dermatol.* – 1996. – V. 35. – P. 74–78.
 199. Dyck J. R. Absence of malonyl coenzyme A decarboxylase in mice increases cardiac glucose oxidation and protects the heart from ischemic injury / J.R. Dyck, T.A. Hopkins, S. Bonnet [et al.] // *Circulation.* – 2006. – V. 114. – P. 1721–1728.
 200. Dyck J. R. Malonyl CoA control of fatty acid oxidation in the ischemic heart / J.R. Dyck, G.D. Lopaschuk // *J. Mol. Cell. Cardiol.* – 2002. – V. 34. – P. 1099–1109.
 201. Dzeja P.P. Adenylate kinase: kinetic behavior in intact cells indicates it is integral to multiple cellular processes / P.P. Dzeja, R.J. Zeleznikar, N.D. Goldberg // *Mol. Cell. Biochem.* – 1998. – V. 184. – P. 169–182.
 202. Dzeja P.P. Targeting nucleotide-requiring enzymes: implications for diazoxide-induced cardioprotection / P.P. Dzeja, P. Bast, C. Ozcan, A. Valverde, E.L. Holmuhamedov [et al.] // *Am. J. Physiol. Heart. Circ. Physiol.* – 2003. – V. 284, № 4. – P. 1048–1056.
 203. Ebermann L. Impact of myocardial inflammation on cytosolic and mitochondrial creatine kinase activity and expression / L. Ebermann, C. Piper, U. Köhl [et al.] // *Basic Res. Cardiol.* – 2009. – V. 104, № 3. – P. 247–257.
 204. Edwards G. Pharmacology of the Potassium Channel Operons / G. Edwards, A.H. Weston // *Cardiovasc. Drugs Ther.* – 1995. – V. 9, № 2. – P. 185–193.
 205. Eells J.T. Increased mitochondrial K_{ATP} channel activity during chronic myocardial hypoxia. Is cardioprotection mediated by improved bioenergetics? / J.T. Eells, M.M. Henry, G.J. Gross, J.E. Baker // *Circ. Res.* – 2000. – V. 87, № 10. – P. 915–921.
 206. Egar J. The Na^+/Ca^{2+} exchange inhibitor SEA0400 limits intracellular Ca^{2+} accumulation and improves recovery of ventricular function when added to cardioplegia / J. Egar, Ahmad Ali, Susan E Howlett, Camille Hancock Friesen and Stacy O'Blenes // *J. Cardiothorac. Surg.* – 2014. – V. 9. – P. 11 – 20.

207. Elliott G. Myocardial ischemia/reperfusion protection using monophosphoryl lipid A is abrogated by the ATP-sensitive potassium channel blocker, glibenclamide / G. Elliott, M. Comerford, J. Smith, L. Zhao // *Cardiovasc. Res.* – 1996. – V. 32. – P. 1071–1080.
208. Ellis J.A. Genes controlling postural changes in blood pressure: comprehensive association analysis of ATP-sensitive potassium channel genes KCNJ8 and ABCC9 / J.A. Ellis, A. Lamantia, R. Chavez, K.J. Scurrah, C.G. Nichols, S.B. Harrap // *Physiol. Genomics.* – 2010. – V. 40. – P. 184–188.
209. Elrod J.W. Physiologic functions of cyclophilin D and the mitochondrial permeability transition pore / J.W. Elrod, J.D. Molkenin // *Ibid.* – 2013. – V. 77, № 5. – P. 1111–1122.
210. Enkvetchkul D. Gating mechanism of K_{ATP} channels: function fits form / D. Enkvetchkul, C.G. Nichols // *J Gen Physiol.* – 2003. – V. 122. – P. 471–480.
211. Ertracht O. The mitochondria as a target for cardioprotection in acute myocardial ischemia / O. Ertracht, A. Malka, S. Atar, O. Binah // *Pharmacol. Ther.* – 2014. – V. 142, № 1. – P. 33–40.
212. Escande D. Potassium channelopeners act through an activation of ATP-sensitive K^+ channels in guinea pig cardiac myocytes / D. Escande, D. Thuringer, S. Leguern, J. Courteix, M. Laville, I. Caverio // *Pflugers Arch.* – 1989. – V. 414, №6. – P. 69–675.
213. Fan Z. Anionic phospholipids activate ATP-sensitive potassium channels / Z. Fan, J.C. Makielski // *J. Biol. Chem.* – 1997. – V. 272. – P. 5388–5395.
214. Fedorov V.V. Effects of KATP channel openers diazoxide and pinacidil in coronary-perfused atria and ventricles from failing and non-failing human hearts / V.V. Fedorov, A.V. Glukhov, C.M. Ambrosi // *J. Mol. Cell. Cardiol.* – 2011. – V. 51. – P. 215–225.
215. Ferrari R. The role of mitochondria in ischemic heart disease / R. Ferrari // *J. Cardiovasc. Pharmacol.* – 1996. – V. 28. – P. 1–10.
216. Fey T.A. Effects of ATP-sensitive K^+ channel openers and tolterodine on involuntary bladder contractions in a pig model of partial bladder outlet obstruction /

- T.A. Fey, M. Gopalakrishnan, J.G. Strake [et al.] // *Neurourol. Urodyn.* – 2003. – V. 22. – P. 147–55.
217. Findlay I. Interactive regulation of the ATP-sensitive potassium channel of cardiac muscle // *J. Cardiovasc. Pharmacol.* – 1994. – V. 24, № 4. – P. S6–S11.
218. Flagg T.P. Differential structure of atrial and ventricular KATP: atrial KATP channels require SUR1 / T.P. Flagg, H.T. Kurata, R. Masia [et al.] // *Circ. Res.* – 2008. – V. 103, № 12. – P. 1458–1465.
219. Flagg T.P. Sarcolemmal K_{ATP} channels: what do we really know? / T.P. Flagg, C.G. Nichols // *J. Mol. Cell. Cardiology.* – 2005. – V. 39. – P. 61–70.
220. Folco G. Leucotrienes in Cardiovascular Disease / G. Folco, G. Rossoni, C. Bucellati, F. Berti F, J. Maclouf, A. Sala [et al.] // *Am. J. Crit. Care. Med.* – 2000. – V. 161. – P. S112–S116.
221. Folmes C. D. Fatty acid oxidation inhibitors in the management of chronic complications of atherosclerosis / C.D. Folmes, A.S. Clanachan, G.D. Lopaschuk // *Curr. Atheroscler. Rep.* – 2005. – V. 7. – P. 63–70.
222. Foster D.B. Mitochondrial ROMK Channel Is a Molecular Component of MitoKATP / D.B. Foster, A.S. Ho, J.J. Rucker, A.O. Garlid, L. Chen, A. Sidor, K.D. Garlid, B. O'Rourke // *Circ. Res.* – 2012. – V. 111. 0 P. 446–454.
223. Fozard JR. Potassium channel openers: agents for the treatment of airways hyperreactivity / J.R. Fozard, P.W. Manley // In: Hansel TT, Barnes PJ, editors. *New drugs for asthma, allergy and COPD. Prog. Respir. Res.* – 2001. – P. 77–80.
224. Frayer R.M. Ischemic preconditioning in rats: role of mitochondrial K_{ATP} channel in preservation of mitochondrial function / R.M. Frayer, J.T. Eells, A.K. Hsu, M.M. Henry, G.J. Gross // *Am. J. Physiol. (Heart Circ. Physiol.)*. – 2000. – V. 278, № 1. – P. H305–H312.
225. Fridovich I. *Handbook of Methods for Oxygen Radical Research*, R.A. Greenwald. – Boca Raton, FL: CRC. – 1987. – 367 p.
226. Friedel H.A. Pinacidil: a review of its pharmacodynamic and pharmacokinetic properties, and therapeutic potential in the treatment of hypertension / H.A. Friedel, R.N. Brogden // *Drugs.* – 1990. – V. 39. – P. 929–967.

227. Fryer R.M. Opioid-induced second window of cardioprotection: potential role of mitochondrial K_{ATP} channels / R.M. Fryer, A.K. Hsu, J.T. Eells, H. Nagase, G.J. Gross // *Circ. Res.* – 1999. – V. 84. – P. 846–851.
228. Fukao M. Alterations in endothelium-dependent hyperpolarization and relaxation in mesenteric arteries from streptozotocin-induced diabetic rats / M. Fukao, Y. Hattori, M. Kanno, I. Sakuma, A. Kitabatake // *Br. J. Pharmacol.* – 1997. – V. 121. – P. 1383–1391.
229. Fukuda H. The effect of $K(atp)$ channel activation on myocardial cationic and energetic status during ischemia and reperfusion: role in cardioprotection / H. Fukuda, C.S. Luo, X. Gu, L. Guo, S.B. Digerness, J. Li, M.M. Pike // *J. Mol. Cell. Cardiol.* – 2001. – V. 33, № 3. – P. 545–560.
230. Fukuzaki K. Role of sarcolemmal ATP-sensitive K^+ channels in the regulation of sinoatrial node automaticity: an evaluation using Kir6.2-deficient mice / K. Fukuzaki, T. Sato, T. Miki, S. Seino, H. Nakaya // *J. Physiol. (Lond).* – 2008. – V. 586. – P. 2767–2778.
231. Gandolfo G. K^+ channel openers decrease seizures in genetically epileptic rats / G. Gandolfo, S. Romettino, C. Gottesmann, G. Van Luijtelaaar, A. Coenen, J.N. Bidard [et al.] // *Eur. J. Pharmacol.* – 1989. – V. 167. – P. 181–183.
232. Garlid K.D. Mitochondrial potassium transport: the K. O'Rourke cycle / K.D. Garlid, P. Paucek // *Biochim. Biophys. Acta.* – 2003. – 1606. – P. 23–41.
233. Geiseler S.J. $KATP$ -channels play a minor role in the protective hypoxic shut-down of cerebellar activity in eider ducks (*Somateria mollissima*) / S.J. Geiseler, S. Ludvigsen, L.P. Folkow // *Neuroscience.* – 2015. – V. 284. – P. 751–758.
234. Gendron M.E. Loss of endothelial $KATP$ channel-dependent, NO-mediated dilation of endocardial resistance coronary arteries in pigs with left ventricular hypertrophy / M.E. Gendron, E. Thorin, L.P. Perrault // *Br. J. Pharmacol.* – 2004. – V. 143. – P. 285–291.
235. Gerdel D. Inhibition of the catalytic activity of alcoholdehydrogenase by NO is associated with S-nitrosylation and the release of zinc / D. Gerdel, A.J. Cederbaum // *Biochemistry.* – 1996. – V. 35, № 50. – P. 16186–16194.

236. Gloyn A.L. Activating mutations in the gene encoding the ATP-sensitive potassium-channel subunit Kir6.2 and permanent neonatal diabetes / A.L. Gloyn, E.R. Pearson, J.F. Antcliff [et al.] // *N. Engl. J. Med.* – 2004. – V. 350. – P. 1838–1849.
237. Gloyn A.L. Mutations in the genes encoding the pancreatic β -cell KATP channel subunits Kir6.2 (KCNJ11) and SUR1 (ABCC8) in diabetes mellitus and hyperinsulinism / A.L. Gloyn, J. Siddiqui, S. Ellard // *Hum. Mutat.* – 2006. – V. 27. – P. 220–231.
238. Glukhov A.V. Differential K(ATP) channel pharmacology in intact mouse heart / A.V. Glukhov, T.P. Flagg, V.V. Fedorov, I.R. Efimov, C.G. Nichols // *J. Mol. Cell. Cardiol.* – 2010. – V. 48, № 1. – P. 152-160.
239. Gorbacheva O.S. Study of the influence of flocalin on the energy and ion exchanges in rat liver mitochondria / O.S. Gorbacheva, R.B. Strutynskyi, N.V. Khmil, N.V. Belosludtseva, S.V. Mursaeva, M.O. Korobeynikova, G.A. Alilova, E.I. Lezhnev, G.D. Mironova // *Biological Motility.* - Pushchino 2016. – P. 73-77.
240. Green D.W. Preconditioning in rat hearts is independent of mitochondrial F1F0 ATPase inhibition / D.W. Green, H.N. Murray, P.G. Sleph, F.L. Wang, A.J. Baird, W.L. Rogers, G.J. Grover // *Am. J. Physiol.* – 1998. – V. 274(Pt 2). – P. H90–H97.
241. Green L.L. Analysis of nitrate, nitrite and [^{+5}N] nitrate in biological fluids / L.L. Green, D.A. Wagner, J. Glogowski [et al.] // *Anal. Biochem.* – 1982. – V. 126, № 1. – P. 131–138.
242. Gross G.J. KATP channels and myocardial preconditioning: an update / G.J. Gross, J.N. Peart // *Am. J. Physiol.* – 2003. – V. 285. – P. H921–H930.
243. Gross G.J. Sarcolemmal versus mitochondrial ATP-sensitive K^+ channels and myocardial preconditioning / G.J. Gross, R.M. Fryer // *Circ. Res.* – 1999. – V. 84, № 9. – P. 973–979.
244. Grossini E. Levosimendan induces NO production through p38 MAPK, ERK and Akt in porcine coronary endothelial cells: role for mitochondrial K(ATP) channel / E. Grossini, C. Molinari, P.P. Caimmi, F. Uberti, G. Vacca // *Br. J. Pharmacol.* – 2009. – V. 156, № 2. – P. 250–61.

245. Grover G.J. Lack of pharmacologic interaction between ATP-sensitive potassium channels and adenosine A₁ receptors in ischemic rat hearts / G.J. Grover, A.J. Baird, P.G. Sleph // *Cardiovasc. Res.* – 1996. – V. 31, № 4. – P. 511–517.
246. Grover G.J. Protective effect of mitochondrial KATP activation in an isolated gracilis model of ischemia and reperfusion in dogs / G.J. Grover, D.E. Burkett, C.S. Parham, R.J. Scalese, K.K. Sadanaga // *J. Cardiovasc. Pharmacol.* – 2003. – V. 42. – P. 790–792.
247. Grover G.J. The protective effects of cromakalim and pinacidil on reperfusion function and infarct size in isolated perfused rat hearts and anesthetized dogs / G.J. Grover, S. Dzwonczyk, C.S. Parham, P.G. Sleph // *Cardiovasc. Drugs Ther.* – 1990. – V. 4, № 2. – P. 465–474.
248. Haïssaguerre M. Ventricular fibrillation with prominent early repolarization associated with a rare variant of KCNJ8/KATP channel / M. Haïssaguerre, S. Chatel, F. Sacher [et al.] // *J. Cardiovasc. Electrophysiol.* – 2009. – V. 20, № 1. – P. 93–98.
249. Halestrap A.P. Mitochondrial permeability transition pore opening during myocardial reperfusion – a target for cardioprotection / A.P. Halestrap, S.J. Clarke, S.A. Javadov // *Cardiovasc. Res.* – 2004. – V. 61. – P. 372–385.
250. Halestrap A.P. The permeability transition pore complex: another view / A.P. Halestrap, G.P. McStay, S.J. Clarke // *Biochimie.* – 2002. – V. 84, № 2–3. – P. 153–166.
251. Halliwell B. Lipid peroxidation; its mechanism, measurement and significance / B. Halliwell, S. Chirico // *Am. J. Clin. Nutr.* – 1993. – V. 57, Suppl. 5. – P. 715–724.
252. Han J. Opening of mitochondrial ATP-sensitive potassium channels evokes oxygen radical generation in rabbit heart slices / J. Han, N. Kim, J. Park, D.H. Seog, H. Joo, E. Kim // *J. Biochem (Tokyo).* – 2002. – V. 131. – P. 721–727.
253. Han X. Identification and properties of an ATP-sensitive K⁺ current in rabbit sinoatrial node pacemaker cells / X. Han, P.E. Light, W.R. Giles, R.J. French // *J. Physiol. (Lond).* – 1996. – V. 490, Pt 2. – P. 337–350.
254. Hanley P.J. 5-hydroxydecanoate is metabolised in mitochondria and creates a rate-limiting bottleneck for β -oxidation of fatty acids / P.J. Hanley, S. Drose, U.

- Brandt [et al.] // J. Physiol. – 2004. – V. 562, Pt 2. – P. 307–318.
255. Hanley P.J. K(ATP) channels and preconditioning: a re-examination of the role of mitochondrial K(ATP) channels and an overview of alternative mechanisms / P.J. Hanley, J. Daut // J. Mol. Cell. Cardiol. – 2005. – V. 1. – P. 17–50.
256. Hanley P.J. K_{ATP} channel-independent targets of diazoxide and 5-hydroxydecanoate in the heart / P.J. Hanley, M. Mickel, M. Löffler, U. Brandt, J. Daut // J. Physiology. – 2002. – V. 542, № 3. – P. 735–741.
257. Harder D.R. Possible cellular mechanism for cerebral vasospasm after experimental subarachnoid hemorrhage in the dog / D.R. Harder, P. Dernbach, A. Waters // J. Clin. Invest. – 1987. – V. 80. – P. 875–880.
258. Hardie D. G. AMP-activated protein kinase: the guardian of cardiac energy status / D.G. Hardie // J. Clin. Invest. – 2004. – V. 114. – P. 465–468.
259. Hardie D. G. AMP-activated/SNF1 protein kinases: conserved guardians of cellular energy / D.G. Hardie // Nat. Rev. Mol. Cell. Biol. – 2007. – V. 8. – P. 774–785.
260. Hardy G. Cysteinyl leukotrienes modulate angiotensin II constrictor effects on aortas from streptozotocin-induced diabetic rats / G. Hardy, F. Stanke-Labesque, M. Peoc'h, A. Hakim [et al.] // Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol. – 2001. – V. 21. – P. 1751–1758.
261. Harel S. Alternating hypoglycemia and hyperglycemia in a toddler with a homozygous p.R1419H ABCC8 mutation: an unusual clinical picture / S. Harel, A.S. Cohen, K. Hussain [et al.] // J. Pediatr. Endocrinol. Metab. – 2015. – V. 28, № 3–4. – P. 345–351.
262. Harrap S.B. Familial and genomic analyses of postural changes in systolic and diastolic blood pressure / S.B. Harrap, J.S. Cui, Z.Y. Wong, J.L. Hopper // Hypertension. – 2004. – V. 43. – P. 586–591.
263. Harrison G.J. Extracellular adenosine levels and cellular energy metabolism in ischemically preconditioned rat heart / G.J. Harrison, R.J. Willis, J.P. Headrick // Cardiovasc. Res. – 1998. – V. 40, № 1. – P. 74–87.
264. Hattersley A.T. Activating mutations in Kir6.2 and neonatal diabetes: new clinical

- syndromes, new scientific insights, and new therapy / A.T. Hattersley, F.M. Ashcroft // *Diabetes*. – 2005. – V. 54. – P. 2503–2513.
265. Hausenloy D.J. Preconditioning protects by inhibiting the mitochondrial permeability transition / D.J. Hausenloy, D.M. Yellon, S. Mani-Babu, M.R. Duchon // *Am. J. Physiol. Heart. Circ. Physiol.* – 2004. – V. 287, № 2. – P. 841–849.
266. Head R.J. A contrasting effect of the diabetic state upon the contractile responses of aortic preparations from the rat and rabbit / R.J. Head, P.A. Longhurst, R.L. Panek, R.E. Stitzel // *Br. J. Pharmacol.* – 1987. – V. 91. – P. 275–286.
267. Hedlund P. Effects of nicorandil on human isolated corpus cavernosum and cavernous artery / P. Hedlund, F. Holmquist, H. Hedlund, K.E. Andersson // *J. Urol.* – 1994. – V. 151. – P. 1107–1113.
268. Hein T.W. cAMP-independent dilation of coronary arterioles to adenosine. Role of nitric oxide, G proteins, and Katp channels / T.W. Hein, Lih Kuo // *Circ. Res.* – 1999. – V. 85, № 7. – P. 634–642.
269. Henry P. Do potassium channel openers compete with ATP to activate ATP sensitive potassium channels? / P. Henry, D. Escande // *Cardiovasc. Res.* – 1994. – V. 28, № 6. – P. 754–759.
270. Heurteaux C. K⁺ channel openers prevent global ischemia-induced expression of c-fos, c-jun, heat shock protein, and amyloid (protein precursor genes and neuronal death in rat hippocampus / C. Heurteaux, V. Bertaina, C. Widmann, M. Lazdunski // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. – 1993. – V. 90. – P. 9431–9495.
271. Hiraoka M. Functional modulation of cardiac ATP-sensitive K⁺ channels / M. Hiraoka, T. Furukawa // *News Physiol. Sci.* – 1998. – V. 13, № 6. – P. 131–137.
272. Hoag J. ATP-sensitive potassium channel mediates delayed ischemic protection by heat stress in rabbit heart / J. Hoag, Y. Qian, M. Nayeem, M. DiAngelo, R. Kukreja // *Am. J. Physiol.* – 1997. – V. 273. – P. 2458–2464.
273. Hodgson D.M. Cellular remodeling in heart failure disrupts KATP channel-dependent stress tolerance / D.M. Hodgson, L.V. Zingman, G.C. Kane [et al.] // *EMBO J.* – 2003. – V. 22. – P. 1732–1742.
274. Hoenicke E.M. Donor heart preservation with a novel hyperpolarizing solution:

- superior protection compared with University of Wisconsin solution / E.M. Hoenicke, X.W. Sun, R.G. Strange, R.J. Damiano // *J. Thorac. Cardiovasc. Surg.* – 2000. – V. 20. – P. 746–754.
275. Holdsworth C.T. Acute blockade of ATP-sensitive K⁺ channels impairs skeletal muscle vascular control in rats during treadmill exercise / C.T. Holdsworth, S.W. Copp, S.K. Ferguson, G.E. Sims, D.C. Poole, T.I. Musch // *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* – 2015. – 308, № 11. – H1434–1442.
276. Holmuhamedov E.L. ATP-sensitive K⁺ channel openers prevent Ca²⁺ overload in rat cardiac mitochondria / E.L.Holmuhamedov, L. Wang, A. Terzic // *J. Physiol. (Lond).* – 1999. – V. 519, № 2 – P. 347–360.
277. Holmuhamedov E.L. Mitochondrial ATP-sensitive K⁺ channels modulate cardiac mitochondrial function / E.L.Holmuhamedov, S. Jovanovic, P.P. Dzeja, A. Jovanovic, A. Terzic // *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* – 1998. – V. 275. – P. 1567–1576.
278. Hoppel C.L. Dynamic organization of mitochondria in human heart and in myocardial disease / C.L. Hoppel, B. Tandler, H. Fujioka, A. Riva // *Int. J. Biochem. Cell. Biol.* – 2009. – V. 41, № 10 – P. 1949–1956.
279. Horinaka S. Nicorandil protects against lethal ischemic ventricular arrhythmias and up-regulates endothelial nitric oxide synthase expression and sulfonylurea receptor 2 mRNA in conscious rats with acute myocardial infarction / S. Horinaka, N. Kobayashi, A.Yabe [et al.] // *Cardiovasc. Drugs Ther.* – 2004. – V. 18. – P. 13–22.
280. Horinaka S. Use of nicorandil in cardiovascular disease and its optimization / S. Horinaka // *Drugs.* – 2011. – V. 71, № 9. – P. 1105–1119.
281. Hu H. Pharmacological and histochemical distinctions between molecularly defined sarcolemmal KATP channels and native cardiac mitochondrial KATP channels / H. Hu, T. Sato, J. Seharaseyon, Y. Liu, D.C. Johns, B. O'Rourke, E. Marbón // *Mol. Pharmacol.* – 1999. – V. 55. – P. 1000–1005.
282. Hu X. Disruption of sarcolemmal ATP-sensitive potassium channel activity impairs the cardiac response to systolic overload / X. Hu, X. Xu, Y. Huang, J. Fasset, T.P. Flagg, Y. Zhang, C.G. Nichols, R.J. Bache, Y. Chen // *Circ. Res.* – 2008. – V.

103. – P. 1009–1017.
283. Huss, J. M. Mitochondrial energy metabolism in heart failure: a question of balance / J.M. Huss, D.P. Kelly // *Clin. Invest.* – 2005. – V. 115, № 3. – P. 547–555.
284. Hwang G.S. Effects of KR-31378, a novel ATP-sensitive potassium channel activator, on hypertrophy of H9c2 cells and on cardiac dysfunction in rats with congestive heart failure / G.S. Hwang, K.S. Oh, H.N. Koo, H.W. Seo, K.H. You, B.H. Lee // *Eur. J. Pharmacol.* – 2006. – V. 540, № 1–3. – P. 131–138.
285. Ikenaga H. Exaggerated impact of ATP-Sensitive K⁺ channels on afferent arteriolar diameter in diabetes mellitus / H. Ikenaga, JP. Bast, RW. Fallet, P.K. Carmines // *J. Am. Soc. Nephrol.* – 2000. – V. 11 – P. 1199–1207.
286. Inagaki N. A family of sulfonylurea receptors determines the pharmacological properties of ATP-sensitive K⁺ channels / N. Inagaki, T. Gono, J.Pt. Clement [et al.] // *Neuron.* – 1996. – V. 16. – P. 1011–1017.
287. Inagaki N. cDNA sequence, gene structure, and chromosomal localization of the human ATP-sensitive potassium channel, uKATP-1, gene (KCNJ8) / N. Inagaki, J. Inazawa, S. Seino // *Genomics.* – 1995. – V. 30. – P. 102–104.
288. Inagaki N. Reconstitution of IKATP: an inward rectifier subunit plus the sulfonylurea receptor / N. Inagaki, T. Gono, J.Pt. Clement [et al.] // *Science.* – 1995. – V. 270. – P. 1166–1170.
289. Inoue I. ATP sensitive K channel in the mitochondrial inner membrane / I. Inoue, H. Nagase, K. Kishi, T. Higuti // *Nature.* – 1991. – V. 352. – P. 244–247.
290. Ishihara K. Inward rectifier K(+) current under physiological cytoplasmic conditions in guinea-pig cardiac ventricular cells / K. Ishihara, D.H. Yan, S. Yamamoto [et al.] // *J. Physiol.* – 2002. – V. 540, № 3. – P. 831–841.
291. Ishizaka H. Coronary arteriolar dilation to acidosis. Role of ATP-sensitive potassium channels and pertussis toxin-sensitive G proteins / H. Ishizaka, S.R. Gudi, J.A. Frangos, L. Kuo // *Circulation.* – 1999. – V. 99, № 4. – P. 558–563.
292. Ismail H. A. Insights in the mechanisms underlying the anti-ulcer activity of nicorandil / H.A. Ismail, M.M. Khalifa, M.K. Hassan, O.M. Ashour // *Pharmazie.* – 2007. – V. 62, №1. – P. 60–66.

293. Jaburek M. State-dependent inhibition of the mitochondrial K_{ATP} channel by glyburide and 5-hydroxydecanoate / M. Jaburek, V. Yarov-Yarovoy, P. Paucek, K.D. Garlid // *J. Biological chemistry*. – 1998. – V. 273, № 22. – P. 13578–13582.
294. Jackson W.F. Potassium channels in the peripheral microcirculation / W.F. Jackson // *Microcirculation*. – 2005. – V. 12. – P. 113–127.
295. Jahandir A. K_{ATP} channel therapeutics at the bedside / A. Jahandir, A. Terzic // *J. Mol. Cell. Cardiology*. – 2005. – V. 39. – P. 99–112.
296. Janecka A. Development of opioid peptide analogs for pain relief / A. Janecka, R. Perlikowska, K. Gach, A. Wyrebska, J. Fichna / *Curr. Pharm. Des.* – 2010. – V. 16, № 9. – P. 1126–35.
297. Janigro D. ATP-sensitive K^+ channels in rat aorta and brain microvascular endothelial cells / D. Janigro, G.A. West, E.L. Gordon, H.R. Winn / *Am. J. Physiol.* – 1993. – V. 265. – P. C812–C821.
298. Jansson A.M. Soluble CXCL16 predicts long-term mortality in acute coronary syndromes / A.M. Jansson, P. Aukrust, T. Ueland, C. Smith, T. Omland, M. Hartford, K. Caidahl // *Circulation*. – 2009. – V. 119, № 25. – P. 3181–3188.
299. Jaswal J. S. Inhibition of p38 MAPK and AMPK restores adenosine-induced cardioprotection in hearts stressed by antecedent ischemia by glucose utilization / J.S. Jaswal, M. Gandhi, B.A. Finegan [et al.] // *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* – 2007. – V. 293. – P. H1107–H1114.
300. Jiang C. Modulation of K^+ channels by intracellular ATP in human neocortical neurons / C. Jiang, G.G. Haddad // *Neurophysiol.* – 1997. – V. 77, № 1. – P. 93–102.
301. Jilkina O. Effects of $K(ATP)$ channel openers, P-1075, pinacidil, and diazoxide, on energetics and contractile function in isolated rat hearts / O. Jilkina, B. Kuzio, G.J. Grover, V.V. Kupriyanov // *J. Mol. Cell. Cardiol.* – 2002. – V. 34, № 4. – P. 427–440.
302. Jones S.P. The ubiquitous role of nitric oxide in cardioprotection / S.P. Jones, R. Bolli // *J. Mol. Cell. Cardiol.* – 2006. – V. 40, № 1. – P. 16–23.
303. Jovanovic S. A patient suffering from hypokalemic periodic paralysis is deficient in skeletal muscle ATP-sensitive K^+ channels / S. Jovanovic, Q. Du, S.

- Mukhopadhyay, R. Swingler, R. Buckley, J. McEachen, A. Jovanovic // Clin. Transl. Sci. – 2008. – V. 1. – P. 71–74.
304. Jovanović S. Glyceraldehyde 3-phosphate dehydrogenase serves as an accessory protein of the cardiac sarcolemmal K_{ATP} channel / S. Jovanovic, Q. Du, R.M. Crawford [et al.] // EMBO Rep. – 2005. – V. 6. – P. 848–852.
305. Jovanović S. High glucose regulates the activity of cardiac sarcolemmal K_{ATP} channels via 1,3-bisphosphoglycerate: a novel link between cardiac membrane excitability and glucose metabolism / S. Jovanovic, A. Jovanovic // Diabetes. – 2005. – V. 54. – P. 383–393.
306. Kaasik A. Energetic crosstalk between organelles: architectural integration of energy production and utilization / A. Kaasik, V. Veksler, E. Boehm [et al.] // Circ. Res. – 2001. – V. 89. – P. 153–159.
307. Kalantarina K. The choice of antihypertensive drugs in patients with diabetes: angiotensin II and beyond / K. Kalantarina, H.M. Sigary // Curr. Diab. Rep. – 2002. – V. 2, № 5. – P. 423–430.
308. Kane G.C. ATP-sensitive K^+ channel knockout compromises the metabolic benefit of exercise training, resulting in cardiac deficits / G.C. Kane, A. Behfar, S. Yamada [et al.] // Diabetes. – 2004. – V. 53. – P. S169–S175.
309. Kane G.C. Cardiac K_{ATP} channels in health and disease / Garvan C. Kane, Xiao-Ke Liu, Satsuki Yamada, Timothy M. Olson, and Andre Terzic // J. Mol. Cell. Cardiol. – 2005. – V. 8, № 6. – P. 937–943.
310. Kane G.C. K_{ATP} channel genetic deficiency disrupts a vital proximal calcium checkpoint predisposing to calcineurin-dependent cardiac hypertrophy and congestive heart failure / G.C. Kane, A. Behfar, F. O’Cochlain [et al.] // Circulation. – 2004. – V. 110, №1. – P. III.
311. Kane G.C. KCNJ11 gene knockout of the Kir6.2 K_{ATP} channel causes maladaptive remodeling and heart failure in hypertension / G.C. Kane, A. Behfar, R.B. Dyer [et al.] // Hum. Mol. Genet. – 2006. – V. 15. – P. 2285–2297.
312. Kane G.C. Maladaptive cardiac remodeling and mortality under mineralocorticoid induced hypertension following K_{ATP} channel knockout / G.C. Kane, F. O’Cochlain

- D.M. Hodgson [et al.] // Clin. Pharm. Ther. – 2004. – V. 75. – P. 46.
313. Kang Y. ATP-sensitive K⁺ channels are involved in the mediation of intrathecal norepinephrine- or morphine-induced antinociception at the spinal level: a study using EMG planimetry of flexor reflex in rats / Y. Kang, Z. Zhang, S. Yang, J. Qiao, N. Dafny // Brain Res. Bull. – 1998. – V. 45. – P. 269–273.
314. Katnik C. An ATP-sensitive potassium conductance in rabbit arterial endothelial cells / C. Katnik, D.J. Adams // J. Physiol. (Lond). – 1995. – V. 485, (Pt 3). – P. 595–606.
315. Katnik C. Characterization of ATP-sensitive potassium channels in freshly dissociated rabbit aortic endothelial cells / C. Katnik, D.J. Adams // Am. J. Physiol. – 1997. – V. 272. – P. H2507–H2511.
316. Kawahito S. Protective effects of anesthetics on vascular function related to K⁺ channels / S. Kawahito, K. Nakahata, T. Azma, Y. Kuroda, D.J. Cook, H. Kinoshita // Curr. Pharm. Des. – 2014. – V. 20, № 36. – P. 5727–5737.
317. Kawaki J. Unresponsiveness to glibenclamide during chronic treatment induced by reduction of ATP-sensitive K⁺ channels activity / J. Kawaki, K. Nagashima, J. Tanaka, T. Miki [et al.] // Diabetes. – 1999. – V. 48. – P. 2001–2006.
318. Kelly M.L. Patch clamped single pancreatic zymogen granules: direct measurements of ion channel activities at the granule membrane / M.L. Kelly, R. Abu-Hamdah, A. Jeremic, S.J. Cho, A.E. Ilie, B.P. Jena // Pancreatology. – 2005. – V. 5. – P. 443–449.
319. Kersten J.R. Impaired microvascular response to graded coronary occlusion in diabetic and hyperglycemic dogs / J.R. Kersten, L.A. Brooks, K.C. Dellsperger // Am. J. Physiol. Heart. Circ. Physiol. – 1995. – V. 268. – P. 1667–1674.
320. Kevelaitis E. Preconditioning by mitochondrial ATP-sensitive potassium channel openers: An effective approach for improving the preservation of heart transplants / E. Kevelaitis, A. Oubénaïssa, J. Peynet, C. Mouas, P. Menasché // Circulation. – 1999. – V. 9, 100 (19 Suppl). – P. II345–II350.
321. Khmil N.V. A Study of the Effects of Flocalin on Respiration and Potassium Transport of Rat – Heart and Liver Mitochondria / N.V. Khmil, O.S. Gorbacheva,

- R.B. Strutynskiy, M.O. Korobeynikova, N.V. Belosludtseva, O.V. Kolomytkin, G.D. Mironova // *Biophysics*. – 2016. – V. 61, № 6. P. 888–892.
322. Kicinska A. Protective Effects of the potassium channel opener-diazoxide against injury in neonatal rat ventricular myocytes / A. Kicinska, A. Szewczyk // *Gen. Physiol. Biophys.* – 2003. – V. 22. – P. 383–395.
323. Kinoshita H. Inhibitory effect of high concentration of glucose on relaxation to activation of ATP-sensitive K^+ channels in human omental artery / H. Kinoshita, T. Azma, K. Nakahata [et al.] // *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* – 2004. – V. 24. – P. 2290–2295.
324. Kis B. The mitochondrial K(ATP) channel opener BMS-191095 induces neuronal preconditioning / B. Kis, K. Nagy, J.A. Snipes, N.C. Rajapakse, T. Horiguchi, G.J. Grover [et al.] // *Neuroreport*. – 2004. – V. 15. – P. 345–349.
325. Konstantinov I.E. Remote ischemic preconditioning of the recipient reduces myocardial ischemia-reperfusion injury of the denervated donor heart via a Katp channel-dependent mechanism / I.E. Konstantinov, J. Li, M.M. Cheung, M. Shimizu, J. Stokoe, R.K. Kharbanda, A.N. Redington // *Transplantation*. – 2005. – V. 79, № 12. – P. 1691–1695.
326. Kowaltowski A.J. Bioenergetic consequences of opening the ATP-sensitive K^+ channel of heart mitochondria / A.J. Kowaltowski, S. Seetharaman, P. Paucek, K.D. Garlid // *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* – 2001. – V. 280. – P. 649–657.
327. Krenz M. Opening of ATP-sensitive potassium channels causes generation of free radicals in vascular smooth muscle cells / M. Krenz, O. Oldenburg, H. Wimpsee [et al.] // *Basic. Res. Cardiol.* – 2002. – V. 97, № 5. – P. 365–373.
328. Kuhre R.E. Molecular mechanisms of glucose-stimulated GLP-1 secretion from perfused rat small intestine / R.E. Kuhre, C.R. Frost, B. Svendsen, J.J. Holst // *Diabetes*. – 2015. – V. 64, № 2. – P. 370–382.
329. Kułach A. Effects of standard treatment on the dynamics of matrix metalloproteinases gene expression in patients with acute coronary syndromes / A. Kułach, J. Dąbek, J. Głogowska-Ligus, W. Garczorz, Z. Gąsior // *Pharmacol. Rep.* – 2010. – V. 62, №6. – P. 1108–1116.

330. Kuo L. Adenosine potentiates flow-induced dilatation of coronary arterioles by activating K_{ATP} channels in endothelium / L. Kuo, J.D. Chancellor // *Am. J. Physiol.* – 1995. – V. 269, № 2. – P. H541–H549.
331. Ladilov Y. Reoxygenation-induced rigor-type contracture / Y. Ladilov, O. Efe, C. Schafer [et al.] // *J. Mol. Cell. Cardiol.* – 2003. – V. 9. – P. 1481–1490.
332. Lapshina L.A. The changes of leukotriene C4 amount and morphofunctional myocardium parameters in patients with acute heart failure at treatment with Quercetin / L.A.Lapshina, V.I. Zolotaikina, E.A. Lepeyeva, L.G. Kononenko // *Международный медицинский журнал.* – 2008. – № 3. – С. 34–39.
333. Lasley R.D. Delayed adenosine A1 receptor preconditioning in rat myocardium is MAPK dependent but iNOS independent / R.D. Lasley, B.J. Keith, G. Kristo, Y. Yoshimura, R.M. Jr. Mentzer // *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* – 2005. – V. 289, № 2. – P. H785–H791.
334. Lawson K. Potassium channel openers as potential therapeutic weapons in ion channel disease / K. Lawson // *Kidney Int.* – 2000. – V. 57, № 3. – P. 838–845.
335. Lebuffe G. TL ROS and NO trigger early preconditioning: relationship to mitochondrial K_{ATP} channel / G. Lebuffe, P.T. Schumacker, Z.H. Shao [et al.] // *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* – 2003. – V. 284, № 1. – P. 299–308.
336. Lee T.M. Effect of ATP-sensitive potassium channel agonists on ventricular remodeling in healed rat infarcts / T.M. Lee, M.S. Lin, N.C. Chang // *J. Am. Coll. Cardiol.* – 2008. – V. 51, № 13. – P. 1309–1318.
337. Lee T.M. Effects of pravastatin on ventricular remodeling by activation of myocardial K_{ATP} channels in infarcted rats: role of 70-kDa S6 kinase / T.M. Lee, M.S. Lin, C.H. Tsai, N.C. Chang // *Basic. Res. Cardiol.* – 2007. – V. 102, № 2. – P. 171–182.
338. Lehninger A.L. Biochemistry. The molecular basis of cell structure and function // New York, 1972. – 958 p.
339. Lembert N. K -ATP channel independent effects of pinacidil on ATP production in isolated cardiomyocyte or pancreatic β -cell mitochondria / N. Lembert, L-A. Idahl, H.P.T. Ammon // *Biochemical. Pharmacology.* – 2003. – V. 65. – P. 1835–1841.

340. Lerman A. Endothelin in coronary endothelial dysfunction and early atherosclerosis in humans / A. Lerman, Jr. D.R. Holmes, M.R. Bell [et al.] // *Circulation*. – 1995. – V. 92. – P. 2426–2431.
341. Li J. AMP-activated protein kinase activates p38 mitogen-activated protein kinase by increasing recruitment of p38 MAPK to TAB1 in the ischemic heart / J. Li, E.J. Miller, J. Ninomiya-Tsuji [et al.] // *Circ. Res.* – 2005. – V. 97. – P. 872–879.
342. Li L. Single nucleotide polymorphisms in K(ATP) channels: muscular impact on type 2 diabetes / L. Li, Y. Shi, X. Wang, W. Shi, C. Jiang / *Diabetes*. – 2005. – V. 54. – P. 1592–1597.
343. Light P.E. Molecular basis of protein kinase C-induced activation of ATP-sensitive potassium channels / P.E. Light, C. Bladen, R.J. Winkfein, M.P. Walsh, R.J. French // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. – 2000. – V. 97. – P. 9058–9063.
344. Lin YW. Destabilization of ATP-sensitive potassium channel activity by novel KCNJ11 mutations identified in congenital hyperinsulinism / Y.W. Lin, J.D. Bushman, F.F. Yan, S. Haidar, C. MacMullen, A. Ganguly, C.A. Stanley, S.L. Shyng // *J. Biol. Chem.* – 2008. – V. 283. – P. 9146–9156.
345. Liu D. Activation of mitochondrial ATP-dependent potassium channels protects neurons against ischemia-induced death by a mechanism involving suppression of Bax translocation and cytochrome c release / D. Liu, C. Lu, R. Wan, W.W. Auyeung, M.P. Mattson // *J. Cereb. Blood. Flow. Metab.* – 2002. – V. 22, № 4. – P. 431–443.
346. Liu X.K. Genetic disruption of Kir6.2, the pore-forming subunit of ATP-sensitive K⁺ channel, predisposes to catecholamine-induced ventricular dysrhythmia / X.K. Liu, S. Yamada, G.C. Kane, A.E. Alekseev, D.M. Hodgson [et al.] // *Diabetes*. – 2004. – V. 53. – P. S165–S168.
347. Liu Y. Pharmacological comparison of native mitochondrial K(ATP) channels with molecularly defined surface K(ATP) channels / Y. Liu, G. Ren, B. O'Rourke, E. Marbón, J. Seharaseyon // *Mol. Pharmacol.* – 2001. – V. 59. – P. 225–230.
348. Liu Y. The coronary circulation in diabetes: influence of reactive oxygen species on K⁺ channel-mediated vasodilation / Y. Liu, D.D. Gutterman // *Vascul. Pharmacol.* – 2002. – V. 38, № 1. – P. 43–49.

349. Lopaschuk G. D. Myocardial fatty acid metabolism in health and disease / G.D. Lopaschuk, J.R. Ussher, C.D. Folmes [et al.] // *Physiol. Rev.* – 2010. – V. 90. – P. 207–258.
350. Lowry O.H. Protein measurement with the Folin phenol reagent / O.H. Lowry, N. Rosenbrough, A.L. Farr, R.I. Randall // *J. Biol. Chem.* – 1951. – V. 193, №1. – P. 265–275.
351. Lu T. Cardiac and vascular KATP channels in rats are activated by endogenous epoxyeicosatrienoic acids through different mechanisms / T. Lu, D. Ye, X. Wang, J.M. Seubert, J.P. Graves, J.A. Bradbury, D.C. Zeldin, H.C. Lee // *J. Physiol.* – 2006. – V. 575, (Pt 2). – P. 627–644.
352. Lucky A.W. A randomized, placebo-controlled trial of 5% and 2% topical minoxidil solutions in the treatment of female pattern hair loss / A.W. Lucky, D.J. Piacquadio, C.M. Ditre [et al.] // *J. Am. Acad. Dermatol.* – 2004. – V. 50. – P. 541–553.
353. Lukyanova L. D. Mitochondrial signaling in formation of body resistance to hypoxia / L.D. Lukyanova, A.V. Dudchenko, E.L. Germanova [et al.] / In: Xi L., Serebrovskaya N.V. *Intermittent Hypoxia and Human Diseases.* – New York : Nova Science Publ. Inc., 2009. – P. 423–460.
354. Maczewski M. Inhibitors of nitric oxide synthesis and ischemia/reperfusion attenuate coronary vasodilator response to pinacidil in isolated rat heart / M. Maczewski, A. Beresewicz // *J. Physiol. Pharmacol.* – 1997. – V. 48, № 4. – P. 737–749.
355. Mahmoudian M. Effect of diazoxide, an ATP-dependent potassium-channel opener, on isolated aortae of normal and diabetic rats / M. Mahmoudian, H. Mirkhani // *Gen. Pharmacol.* – 1998. – V. 31, № 4. – P. 569–571.
356. Malester B. Transgenic expression of a dominant negative KATP channel subunit in the mouse endothelium: effects on coronary flow and endothelin-1 secretion / B. Malester, X. Tong, I. Ghiu [et al.] // *FASEB J.* – 2007. – V. 21, № 9. – P. 2162–2172.
357. Matsuoka T. C-terminal tails of sulfonylurea receptors control ADP-induced activation and diazoxide modulation of ATP-sensitive K(+) channels / T. Matsuoka,

- K. Matsushita, Y. Katayama [et al.] // *Circ. Res.* – 2000. – V. 87, № 10. – P. 873–880.
358. Matsuyama N. Ischemic but not pharmacological preconditioning requires protein synthesis / N. Matsuyama, J.E. Leavens, D. McKinnon [et al.] // *Circulation.* – 2000. – V. 102(19 Suppl 3). – P. III312–III318.
359. Mayhan WG. Constrictor responses of the rat basilar artery during diabetes mellitus / W.G. Mayhan // *Brain Res.* – 1998. – V. 783, № 2 – P. 326–331.
360. Mazur I., Voronkov L., Dosenko V., Strutynskyi R., Gorovenko N. Impact of KCNJ11 gene polymorphisms of ATP-sensitive potassium channel on left ventricular end-diastolic volume and mass in chronic systolic heart failure / I. Mazur, L. Voronkov, V. Dosenko, R. Strutynskyi, N. Gorovenko // *Europ J Heart Failure.* – 2016. – V.18, № 1, P. 284.
361. McCully JD. Mitochondrial ATP-sensitive potassium channels in surgical cardioprotection / J.D. McCully, S. Levitsky // *Arch. Biochem. Biophys.* – 2003. – V. 420. – P. 237–245.
362. McLeod J.D. Effect of K⁺ channel-modulating drugs on the vasoconstrictor responses of leukotrienes C4, D4 and angiotensin II in the guinea-pig isolated perfused heart / J.D. McLeod, P.J. Piper // *Br. J. Pharmacol.* – 1992. – V. 105, № 3 – P. 739–743.
363. McPherson C.D. Ischemic cardioprotection by ATP-sensitive K⁺ channels involves high-energy phosphate preservation / C.D. McPherson, G.N. Pierce, W.C. Cole // *Am. J. Physiol.* – 1993. – V. 265. – P. H1809–H1818.
364. Medeiros-Domingo A. Gain-of-function mutation S422L in the KCNJ8-encoded cardiac K(ATP) channel Kir6.1 as a pathogenic substrate for J-wave syndromes / A. Medeiros-Domingo, B.H. Tan, L. Crotti [et al.] // *Heart Rhythm.* – 2010. – V. 7. – P. 1466–1471.
365. Mederos y Schnitzler M. ATPsensitive potassium channels in capillaries isolated from guinea-pig heart / M. Mederos y Schnitzler, C. Derst, J. Daut, R. Preisig-Muller // *J. Physiol.* – 2000. – V. 525 (Pt 2). – P. 307–317.
366. Mei D.A. K_{ATP} channels mediate late preconditioning against infarction produced

- by monophosphoryl lipid A / D.A. Mei, G.T. Elliot, G.J. Gross // *Am. J. Physiol.* – 1996. – V. 271, № 6. – P. H2723–H2729.
367. Merkus D. Contribution of KATP⁺ channels to coronary vasomotor tone regulation is enhanced in exercising swine with a recent myocardial infarction / D. Merkus, B. Houweling, M. van Vliet, D.J. Duncker // *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* – 2005. – V. 288, № 3 – P. H1306–1313.
368. Messenger A.G. Minoxidil: mechanisms of action on hair growth / A.G. Messenger, J. Rundegren // *Br. J. Dermatol.* – 2004. – V. 150. – P. 186–194.
369. Miki T. Mouse model of Prinzmetal angina by disruption of the inward rectifier Kir6.1 / T. Miki, M. Suzuki, T. Shibasaki [et al.] // *Nat. Med.* – 2002. – V. 8, № 5 – P. 466–472.
370. Miki T. The structure and function of the ATP-sensitive K⁺ channel in insulin-secreting pancreatic beta-cells / T. Miki, K. Nagashima, S. Seino // *J. Mol. Endocrinol.* – 1999. – V. 22, № 2. – P. 113–123.
371. Minamino T. Protecting endothelial function: A novel therapeutic target of ATP-sensitive potassium channel openers / T. Minamino, M. Hori // *Cardiovasc. Res.* – 2007. – V. 73, № 3. – P. 448–449.
372. Minoretti P.A. novel Val734Ile variant in the ABCC9 gene associated with myocardial infarction / P. Minoretti, C. Falcone, A. Aldeghi [et al.] // *Clin. Chim. Acta.* – 2006. – 370, № 1–2. – P. 124–128.
373. Misurski D.A. Attenuated agonist evoked vasoconstrictor responses in the perfused mesenteric vascular bed of streptozotocin diabetic rats / D.A. Misurski, Robert L. Hopfner, Venkat Gopalakrishnan // *Experimental Biology and Medicine.* – 2001. – V. 226, № 10. – P. 940 – 946.
374. Miura H. Diabetes Mellitus Impairs Vasodilation to Hypoxia in Human Coronary Arterioles: Reduced Activity of ATP-Sensitive Potassium Channels / H. Miura, R.E. Wachtel, F.R. Loberiza [et al.] // *Circ. Res.* – 2003. – V. 92. – P. 151–158.
375. Mizumura T. Bimakalim, an ATP-Sensitive Potassium Channel Opener, Mimics the Effects of Ischemic Preconditioning to Reduce Infarct Size, Adenosine Release, and Neutrophil Function in Dogs / T. Mizumura, K. Nithipatikom, G.J. Gross //

- Circulation. – 1995. – V. 92. – P. 1236–1245.
376. Mohammed Abdul K.S. Upregulation of cardioprotective SUR2A by sub-hypoxic drop in oxygen / K.S. Mohammed Abdul, S. Jovanović, A. Sukhodub, Q. Du, A. Jovanović // *Biochim. Biophys. Acta.* – 2014. – V. 1843, № 11. – P. 2424–2431.
377. Mootha V.K. Maximum oxidative phosphorylation capacity of the mammalian heart / V.K. Mootha, A.A. Arai, R.S. Balaban // *Am. J. Physiol.* – 1997. – V. 272. – P. 769–775.
378. Moreau C. SUR, ABC proteins targeted by KATP channels openers / C. Moreau, A-L. Prost, R. Derand, M. Vivaudou // *J. Mol. Cell. Cardiology.* – 2005. – V. 38. – P. 951–963.
379. Morrissey A. Immunolocalization of KATP channel subunits in mouse and rat cardiac myocytes and the coronary vasculature / A. Morrissey, E. Rosner, J. Lanning // *BMC Physiol.* – 2005. – V. 5, № 1. – P. 1.
380. Muntean D.M. ATP-sensitive potassium channel modulators and cardiac arrhythmias: an update / D.M. Muntean, L. Kiss, N. Jost, I. Baczko // *Curr. Pharm. Des.* – 2015. – V. 21, № 8. – P. 1091–1102.
381. Murata M. Mitochondrial ATP-Sensitive potassium channels attenuate matrix Ca^{2+} overload during simulated ischemia and reperfusion: Possible mechanism of cardioprotection / M. Murata, M. Akao, B. O'Rourke, E. Marbán // *Circ. Res.* – 2001. – V. 89. – P. 891–898.
382. Murphy E. Sodium regulation during ischemia versus reperfusion and its role in injury / E. Murphy, H. Cross, C. Steenbergen // *Circ. Res.* – 1999. – V. 9. – P. 1469–1470.
383. Murry C.E. Ischemic preconditioning slows energy metabolism and delays ultrastructural damage during a sustained ischemic episode / C.E. Murry, V.J. Richard, K.A. Reimer, R.B. Jennings // *Circ. Res.* – 1990. – V. 66, № 4. – P. 913–931.
384. Nabavi SF. Oxidative stress and post-stroke depression: possible therapeutic role of polyphenols? / S.F. Nabavi, O.M. Dean, A. Turner, A. Sureda, M. Daglia, S.M. Nabavi // *Curr. Med. Chem.* – 2015. – V. 22, № 3. – P. 343–351.

385. Naitoh K. MitoKATP channel activation suppresses gap junction permeability in the ischemic myocardium by an ERK-dependent mechanism / K. Naitoh, Y. Ichikawa, T. Miura [et al.] // *Cardiovasc. Res.* – 2006. – V. 70, № 2. – P. 374–383.
386. Nakai T. Effects of diazoxide on KCl- and norepinephrine-induced contraction in isolated rat aorta / T. Nakai // *J. Pharm. Sci.* – 1994. – V. 83, № 6. – P. 838–841.
387. Nakai T. Effects of diazoxide on norepinephrine-induced vasocontraction and ischemic myocardium in rats / T. Nakai, K. Ichihara // *Biol. Pharm. Bull.* – 1994. – V. 17, № 10. – P. 1311–1314.
388. Nakaya H. Role of ATP-sensitive K⁺ channels in cardiac arrhythmias / H. Nakaya // *J. Cardiovasc. Pharmacol. Ther.* – 2014. – V. 19, № 3. – P. 237–243.
389. National Center for Biotechnology Information [Интернет] // Режим доступа: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/projects/SNP/snp_ref.cgi?rs=5219.
390. National Center for Biotechnology Information [Интернет] // Режим доступа: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/projects/SNP/snp_ref.cgi?rs=5215.
391. National Center for Biotechnology Information [Интернет] // Режим доступа: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/projects/SNP/snp_ref.cgi?rs=757110.
392. Nelson M.T. Physiological roles and properties of potassium channels in arterial muscle / M.T. Nelson, J.M. Quayle // *Am. J. Physiol. (Cell Physiol. 37)*. – 1995. – V. 268. – P. C799–C822.
393. Ngo A.T. Significance of K(ATP) channels, L-type Ca²⁺ channels and CYP450-4A enzymes in oxygen sensing in mouse cremaster muscle arterioles in vivo / A.T. Ngo, M. Riemann, N.H. Holstein-Rathlou, C. Torp-Pedersen, L.J. Jensen // *BMC Physiol.* – 2013. – V. 12, № 13. – P. 18.
394. Nichols C.G. Adenosine triphosphate-sensitive potassium channels in the cardiovascular system / C.G. Nichols, W.J. Lederer // *Am. J. Physiol.* – 1991. – V. 261, № 6. – P. H1675–H1686.
395. Nichols C.G. KATP channels and cardiovascular disease: suddenly a syndrome / C.G. Nichols, G.K. Singh, D.K. Grange // *Circ. Res.* – 2013. – V. 112, № 7. – P. 1059–1072.
396. Nichols C.G. KATP channels as molecular sensors of cellular metabolism / C.G.

- Nichols // *Nature*. – 2006. – V. 440, № 7083. – P. 470–476.
397. Noack T. Characterization of potassium currents modulated by BRL 38227 in rat portal vein / T. Noack, P. Deitmer, G. Edwards, A.H. Weston // *Br. J. Pharmacol.* – 1992. – V. 106, № 3. – P. 717–726.
398. Noma A. ATP-regulated K^+ channels in cardiac muscle / A. Noma // *Nature*. – 1983. – V. 305. – P. 147–148.
399. O'Rourke B. Myocardial K_{ATP} channels in preconditioning / B. O'Rourke // *Circ. Res.* – 2000 – V. 87. – P. 845–855.
400. Oka M. NIP-121 is more effective than nifedipine in acutely reversing chronic pulmonary hypertension / M. Oka, K.G. Morris, I.F. Mcmurtry // *J. Appl. Physiol.* – 1993. – V. 75. – P. 1075–1080.
401. Olsen E.A. A randomized clinical trial of 5% topical minoxidil versus 2% topical minoxidil and placebo in the treatment of androgenetic alopecia in men / E.A. Olsen, F.E. Dunlap, T. Funicella [et al.] // *J. Am. Acad. Dermatol.* – 2002. – V. 47. – P. 377–85.
402. Olson T.M. KATP channel mutation confers risk for vein of Marshall adrenergic atrial fibrillation / T.M. Olson, A.E. Alekseev, C. Moreau [et al.] // *Nat. Clin. Pract. Cardiovasc. Med.* – 2007. – V. 4. – P. 110–116.
403. Olson T.M. Human KATP channelopathies: diseases of metabolic homeostasis / Timothy M. Olson and Andre Terzic // *Pflugers Arch.* – 2010. – V. 460, № 2. – P. 295–306.
404. Opie L.H. *The Heart: Physiology and Metabolism* / L.H. Opie. – New York: Raven, 1991. – 513 p.
405. Orie N.N. Duration-dependent variability in the responses of diabetic rat aorta to noradrenaline and 5-hydroxytryptamine / N.N. Orie, C.P. Aloamaka // *Gen. Pharmacol.* – 1993. – V. 24, № 1. – P. 243–246.
406. Osher E. The 5 lipoxygenase system in the vasculature: emerging role in health and disease / E. Osher, G. Weisinger, R. Limor, K. Tordjman, N. Stern // *Mol. Cell. Endocrinol.* – 2006. – V. 252. – P. 201–206.
407. Otani H. Reactive oxygen species as mediators of signal transduction in ischemic

- preconditioning / H. Otani // *Antioxid. Redox Signal.* – 2004. – V. 6, № 2. – P. 449–469.
408. Ovide-Bordeaux S. Do modulators of the mitochondrial K_{ATP} channel change the function of mitochondria in Situ? / S. Ovide-Bordeaux, R. Ventura-Clapier, V. Veksler // *J. Biological. Chemistry.* – 2000. – V. 275, № 47. – P. 37291–37295.
409. Ozanne S.E. Intracellular localization and molecular heterogeneity of the sulphonylurea receptor in insulin-secreting cells / S.E. Ozanne, P.C. Guest, J.C. Hutton, C.N. Hales // *Diabetologia.* – 1995. – V. 38. – P. 277–282.
410. Ozcan C. Potassium channel openers protect cardiac mitochondria by attenuating oxidant stress at reoxygenation / C. Ozcan, M. Bienengraeber, P.P. Dzeja, A. Terzic // *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* – 2002. – V. 282. – P. 531–539.
411. Pain T. Opening of mitochondrial K_{ATP} channel triggers the preconditioned state by generating free radicals / T. Pain, X-M. Yang, S.D. Critz [et al.] // *Circ. Res.* – 2000. – V. 87, № 6. – P. 460–466.
412. Pang C.Y. Role of ATP-sensitive K^+ channels in ischemic preconditioning of skeletal muscle against infarction / C.Y. Pang, P. Neligan, H. Xu [et al.] // *Am. J. Physiol.* – 1997. – V. 273. – P. H44–H51.
413. Panagiotopoulos S. Effect of acidosis and alkalosis on postischemic Ca gain in isolated rat heart / S. Panagiotopoulos, M.J. Daly, W.G. Nayler // *Am. J. Physiol.* – 1990. – V. 258. – P. 82I–828.
414. Park J.W. Ischemic preconditioning reduces $Op6$ generation and prevents respiratory impairment in the mitochondria of post-ischemic reperfused heart of rat / J.W. Park, Y.S. Chun, Y.H. Kim, C.H. Kim, M.S. Kim // *Life Sci.* – 1997. – V. 60. – P. 2207–2219.
415. Park W.S. Alteration of ATP-sensitive K^+ channels in rabbit aortic smooth muscle during left ventricular hypertrophy / W.S. Park, D.H. Hong, Y.K. Son, M.H. Kim, S.H. Jeong, H.K. Kim, N. Kim, J. Han // *Am. J. Physiol. Cell. Physiol.* – 2012. – V. 303, № 2. – P. C170–C178.
416. Patel H.H. Diazoxide induced cardioprotection: what comes first, K_{ATP} channels or reactive oxygen species? / H.H. Patel, G.J. Gross // *Cardiovasc. Res.* – 2001. – V. 51.

- P. 633–636.
417. Patel M. S. Regulation of the pyruvate dehydrogenase complex / M.S. Patel, L.G. Korotchkina // *Biochem. Soc. Trans.* – 2006. – V. 34. – P. 217–222.
 418. Patterson A.J. Hypoxia and Fetal Heart Development / A.J. Patterson, L. Zhang // *Curr. Mol. Med.* – 2010. – V. 10, № 7. – P. 653–666.
 419. Pearson E.R. Neonatal Diabetes International Collaborative Group Switching from insulin to oral sulfonylureas in patients with diabetes due to Kir6.2 mutations / E.R. Pearson, I. Flechtner, P.R. Njølstad [et al.] // *N. Engl. J. Med.* – 2006. – V. 355. – P. 467–477.
 420. Penna C. Postconditioning with glucagon like peptide-2 reduces ischemia/reperfusion injury in isolated rat hearts: role of survival kinases and mitochondrial KATP channels / C. Penna, T. Pasqua, M.G. Perrelli, P. Pagliaro, M.C. Cerra, T. Angelone // *Basic. Res. Cardiol.* – 2012. – V. 107, № 4. – P. 272.
 421. Perrelli M.G. Catestatin reduces myocardial ischaemia/reperfusion injury: involvement of PI3K/Akt, PKCs, mitochondrial KATP channels and ROS signaling / M.G. Perrelli, F. Tullio, C. Angotti [et al.] // *Pflugers Arch.* – 2013. – V. 465, № 7. – P. 1031–1040.
 422. Picolo G. Activation of peripheral ATP-sensitive K⁺ channels mediates the antinociceptive effect of *Crotalus durissus terrificus* snake venom / G. Picolo, A.C. Cassola, Y. Cury // *Eur. J. Pharmacol.* – 2003. – V. 469. – P. 57–64.
 423. Proks P. Molecular basis of Kir6.2 mutations associated with neonatal diabetes or neonatal diabetes plus neurological features / P. Proks, J.F. Antcliff, J. Lippiat, A.L. Gloyn, A.T. Hattersley, F.M. Ashcroft // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* – 2004. – V. 101. – P. 17539–17544.
 424. Pyvovar S.M. The influence of fluorine-containing K_{ATP} channel openers on energetic and contractile function in rat hearts / S.M. Pyvovar, R.B. Strutynskiy, O.O. Moybenko // *Acta Physiologica.* – Mart 26-29. – Munich 2006. – Vol.186, suppl.1. – P.252.
 425. Pyvovar S.N. Changes of the mitochondrial function by the new fluorine-containing K_{ATP} channel openers / S.N. Pyvovar, V.I. Korgov, R.B. Strutinskii, A.A.

- Moybenko // “4-th Conference on Mitochondrial physiology” Schrocken, Vorarlberg, Austria 16-20 September 2005 – Mitochondrial Physiology Network 10.9: 1-152. – 2005. – P.81-82.
426. Qin L.J. Meta-analysis of association of common variants in the KCNJ11-ABCC8 region with type 2 diabetes / L.J. Qin, Y. Lv, Q.Y. Huang // Genet. Mol. Res. – 2013. – V. 12, № 3. – P. 2990–3002.
427. Quast U. In vitro and in vivo comparison of two K⁺ channel openers, diazoxide and cromakalim, and their inhibition by glibenclamide / U. Quast, N.S. Cook // J. Pharmacol. Exp. Ther. – 1989. – V. 250, № 1. – P. 261–271.
428. Quayle J.M. ATP-sensitive and inwardly rectifying potassium channels in smooth muscle / J.M. Quayle, M.T. Nelson, N.B. Standen // Physiol. Rev. – 1997. – V. 77, № 4. – P. 1165–1232.
429. Quayle J.M. Pharmacology of ATP-sensitive K⁺ currents in smooth muscle cells from rabbit mesenteric artery / J.M. Quayle, A.D. Bonev, J.E. Brayden, M.T. Nelson // Am. J. Physiol. – 1995. – V. 269. – P. C.1112–C.1118.
430. Quesada I. Nuclear KATP channels trigger nuclear Ca²⁺ transients that modulate nuclear function / I. Quesada, J.M. Rovira, F. Martin, E. Roche, A. Nadal, B. Soria // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. – 2002. – V. 99. – P. 9544–9549.
431. Racay P. Fe²⁺-induced inhibition of gerbil forebrain microsomal Ca²⁺-ATPase: effect of stobadine, glutathione and combination of both antioxidants / P. Racay, A.W. Qteishat, H.M. ElKambergy [et al.] // Bioshim. Biophys. Acta. –1998. – V. 1370, №1. – P. 119–126.
432. Rahman S.A. Molecular mechanisms of congenital hyperinsulinism / S.A. Rahman, A. Nessa, K. Hussain // J. Mol. Endocrinol. – 2015. – V. 54, № 2. – P. R119–R129.
433. Rajagopalan S. Angiotensin II-mediated hypertension in the rat increases vascular superoxide production via membrane NAD/NADPH oxidase activation / S. Rajagopalan, S. Kurz, T. Munzel, M. Tarpey, B.A. Freeman, K.K. Griending, D.G. Harrison // J. Clin. Invest. – 1996. – V. 97. – P. 1916–1923.
434. Rajesh K.G. Ischemic preconditioning prevents reperfusion heart injury in cardiac

- hypertrophy by activation of mitochondrial KATP channels / K.G. Rajesh, S. Sasaguri, R. Suzuki, Y. Xing, H. Maeda // *Int. J. Cardiol.* – 2004. – V. 96, № 1. – P. 41–49.
435. Ramnarine S.I. Neuroregulation of mucus secretion by opioid receptors and K(ATP) and BK(Ca) channels in ferret trachea in vitro / S.I. Ramnarine, Y.C. Liu, D.F. Rogers // *Br. J. Pharmacol.* – 1998. – V. 123. – P. 1631–1638.
436. Rana A. Mechanisms involved in attenuated cardio-protective role of ischemic preconditioning in metabolic disorders / A. Rana, N. Goyal, A. Ahlawat, S. Jamwal, B. Reddy, S. Sharma // *Perfusion.* – 2015. – V. 30, № 2. – P. 94–105.
437. Ranki H. J. Gender-specific difference in cardiac ATP-sensitive K⁺ channels / H.J. Ranki, G.R. Budas, R.M. Crawford, A. Jovanović // *J. Am. Coll. Cardiol.* – 2001. – V. 38. – P. 906–915.
438. Ranki H.J. 17 β -estradiol regulates expression of K_{ATP} channels in heart-derived H9c2 cells / H.J. Ranki, G.R. Budas, R.M. Crawford, A.M. Davies, A. Jovanović // *J. Am. Coll. Cardiol.* – 2002. – V. 40. – P. 367–374.
439. Reinecke H. Survival, integration and differentiation of cardiomyocyte grafts / H. Reinecke, M. Zhang, T. Bartosek, C.E. Murry // *Circulation.* – 1999. – V. 100, № 2. – P. 193–202.
440. Reyes S. K(ATP) channel polymorphism is associated with left ventricular size in hypertensive individuals: a large-scale community-based study / S. Reyes, A. Terzic, D.W. Mahoney, M.M. Redfield, R.J. Rodeheffer, T.M. Olson // *Hum. Genet.* – 2008. – V. 123, № 6. – P. 665–667.
441. Reyes S. KATP channel Kir6.2 E23K variant overrepresented in human heart failure is associated with impaired exercise stress response / Santiago Reyes, S. Park, B.D. Johnson, Andre Terzic, Timothy M. Olson // *Hum. Genet.* – 2009. – V. 126, № 6. – P. 779–789.
442. Reyes S. KATP channels confer survival advantage in cocaine overdose / S. Reyes, G.C. Kane, T. Miki, S. Seino, A. Terzic // *Mol. Psychiatry.* – 2007. – V. 12. – P. 1060–1061.
443. Rice M.E. Ascorbate regulation and its neuroprotective role in the brain / M.E.

- Rice // Trends. Neurosci. – 2000. – V. 23, № 5. – P. 209–216.
444. Riedel M.J. Kir6.2 polymorphisms sensitize beta-cell ATP-sensitive potassium channels to activation by acyl CoAs: a possible cellular mechanism for increased susceptibility to type 2 diabetes? / M.J. Riedel, P. Boora, D. Steckley, G. de Vries, P.E. Light // Diabetes. 2003. – V. 52, №10. – P. 2630-2635.
445. Riedel MJ. Current status of the E23K Kir6.2 polymorphism: implications for type-2 diabetes / M.J. Riedel, D.C. Steckley, P.E. Light / Hum. Genet. – 2005. – V. 116. – P. 133–145.
446. Riondel J. In vitro comparative study of cytolysis mediated by natural killer cells towards malignant cells preincubated with antioxidants / J. Riondel, D. Glise, T. Fernandez-Carlos, A. Favier // Anticancer. Res. – 1998. – V. 18, №3a. – P. 1757–1763.
447. Robles L.I. ATP-sensitive K⁺ channel openers inhibit morphine withdrawal / L.I. Robles, M. Barrios, J.M. Baeyens / Eur. J. Pharmacol. – 1994. – V. 251. – P. 113–115.
448. Rodriguez-Pascual F. Role of endothelin in the cardiovascular system / .F Rodriguez-Pascual, O. Busnadiego, D. Lagares, S. Lamas // Pharmacol. Res. – 2011. – V. 63. – P. 463–472.
449. Rosca M.G. Mitochondrial dysfunction in heart failure / M.G. Rosca, C.L. Hoppel // Heart Fail. Rev. – 2013. – V. 18, № 5. – P. 607–622.
450. Rosenblum W.I. ATP-sensitive potassium channels in the cerebral circulation / W.I. Rosenblum // Stroke. – 2003. – V. 34. – P. 1547–1552.
451. Roth S. Mitochondrial potassium ATP channels and retinal ischemic preconditioning / S. Roth, J.C. Dreixler, A.R. Shaikh, K.H. Lee, V. Bindokas // Invest. Ophthalmol. Vis. Sci. – 2006. – V. 47, № 5. – P. 2114–2124.
452. Ruiz-Meana M. Ischemic preconditioning protects cardiomyocyte mitochondria through mechanisms independent of cytosol / M. Ruiz-Meana, E. Núñez, E. Miro-Casas [et al.] // J. Mol. Cell. Cardiol. – 2014. – V. 68. – P. 79–88.
453. Russell R.R. 3rd. AMP-activated protein kinase mediates ischemic glucose uptake and prevents postischemic cardiac dysfunction, apoptosis, and injury / R.R.3rd

- Russell, J. Li, D.L. Coven [et al.] // J. Clin. Invest. – 2004. – V. 114. – P. 495–503.
454. Saddik M. Acetyl-CoA carboxylase regulation of fatty acid oxidation in the heart / M. Saddik, J. Gamble, L.A. Witters, G.D. Lopaschuk // J. Biol. Chem. - 1993. – V. 268. – P. 25836–25845.
455. Saito S. Antiischemic effects of nicorandil during coronary angioplasty in humans / S. Saito, T. Mizumura, T. Takayama [et al.] // Cardiovasc. Drugs Ther. – 1995. – V. 9, №3. – P. 257–263.
456. Saito T. Role of ATP-sensitive K⁺ channels in electrophysiological alterations during myocardial ischemia: a study using Kir6.2-null mice / T. Saito, T. Sato, T. Miki, S. Seino, H. Nakaya // Am. J. Physiol. – 2005. – V. 288. – P. H352–H357.
457. Sakamoto J. Contribution of malonyl-CoA decarboxylase to the high fatty acid oxidation rates seen in the diabetic heart / J. Sakamoto, R.L. Barr, K.M. Kavanagh, G.D. Lopaschuk // Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol. – 2000. – V. 278. – P. H1196–H1204.
458. Saks V.A. Intracellular energetic units in red muscle cells / V.A. Saks, T. Kaambre, P. Sikk [et al.] // Biochem. J. – 2001. – V. 356. – P. 643–657.
459. Salari S. Evidence for a KATP Channel in Rough Endoplasmic Reticulum (rerKATP Channel) of Rat Hepatocytes / S. Salari, M. Ghasemi, J. Fahanik-Babaei, R. Saghiri, R. Sauve, A. Eliassi // PLoS One. – 2015. – V. 10, №5: e0125798.
460. Salter M. Widespread tissue distribution, species and changes in activity of Ca²⁺-dependent and Ca²⁺-independent nitric oxide syntases / M. Salter, R.G. Knowles, S. Moncada // FEBS Lett. – 1991. – V. 291, № 1. – P. 145–149.
461. Saltman A.E. Pharmacological preconditioning with the adenosine triphosphate-sensitive potassium channel opener pinacidil / A.E. Saltman, I.B. Krukenkamp, G.R. Gaudette, H. Horimoto, S. Levitsky // Ann. Thorac. Surg. – 2000. – V. 70, № 2. – P. 595–601.
462. Sanada S. Opening of ATP-sensitive potassium channel attenuates cardiac remodeling induced by chronic inhibition of nitric oxide synthesis / S. Sanada, K. Node, H. Asanuma, H. Ogita, S. Takashima, T. Minamino, M. Asakura, M. Hori, M. Kitakaze // J. Cardiol. – 2003. – V. 41, № 1. – P. 43–44.

463. Sanada S. Role of mitochondrial and sarcolemmal K_{ATP} channels in ischemic preconditioning of the canine heart/ S. Sanada, M. Kitakaze, H. Asanuma [et al.] // *Am. J. Physiol. Heart. Circ. Physiol.* – 2001. – V. 280. – P. 256–263.
464. Schwanstecher C. Kir6.2 polymorphism predisposes to type 2 diabetes by inducing overactivity of pancreatic β -cell ATP-sensitive K^+ channels / C. Schwanstecher, U. Meyer, M. Schwanstecher // *Diabetes.* – 2002. – V. 51. – P. 875–879.
465. Seidlmayer L.K. Distinct mPTP activation mechanisms in ischaemia-reperfusion: contributions of Ca^{2+} , ROS, pH, and inorganic polyphosphate / L.K. Seidlmayer, V.V. Juettner, S. Kettlewell, E.V. Pavlov, L.A. Blatter, E.N. Dedkova // *Cardiovasc. Res.* – 2015. – V. 106, № 2. – P. 237–248.
466. Seidlmayer L.K. Inorganic polyphosphate is a potent activator of the mitochondrial permeability transition pore in cardiac myocytes / L.K. Seidlmayer, M.R. Gomez-Garcia, L.A. Blatter, E. Pavlov, E.N. Dedkova // *J. Gen. Physiol.* – 2012. – V. 139, № 5. – P. 321–331.
467. Semenza G.L. Expression of hypoxia-inducible factor 1: mechanisms and consequences / G.L. Semenza // *Biochem. Pharmacol.* – 2000. – V. 59, №1. – P. 47–53.
468. Semenza G.L. Hypoxia-inducible factors in physiology and medicine / G.L. Semenza // *Cell.* – 2012. – V. 148, №3. – P. 399–408.
469. Semenza G.L. Oxygen sensing, homeostasis and disease / G.L. Semenza // *N. Engl. J. Med.* – 2011. – V. 365, №6. – P. 537–547.
470. Sheykhzade M. The effect of long-term streptozotocin-induced diabetes on contractile and relaxation responses of coronary arteries: selective attenuation of CGRP-induced relaxations / M. Sheykhzade, G.T. Dalsgaard, Tue Johansen, N.C. Berg Nyborg // *Br. J. Pharmacol.* – 2000. – V. 129. – P. 1212–1218.
471. Shi W.W. $K(ATP)$ channel action in vascular tone regulation: from genetics to diseases / W.W. Shi, Y. Yang, Y. Shi, C. Jiang // *Sheng Li Xue Bao.* – 2012. – V. 64, № 1. – P. 1–13.
472. Shi Y. PKA phosphorylation of SUR2B subunit underscores vascular $KATP$ channel activation by beta-adrenergic receptors / Y. Shi, Z. Wu, N. Cui, W. Shi, Y.

- Yang, X. Zhang, A. Rojas, B.T. Ha, C. Jiang // *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.* – 2007. – V. 293. – P. R1205–R1214.
473. Shimizu W. Effects of a K(+) channel opener to reduce transmural dispersion of repolarization and prevent torsade de pointes in LQT1, LQT2, and LQT3 models of the long-QT syndrome / W. Shimizu, C. Antzelevitch // *Circulation.* – 2000. – V. 102. – P. 706–712.
474. Shimizu W. Improvement of repolarization abnormalities by a K⁺ channel opener in the LQT1 form of congenital long-QT syndrome / W. Shimizu, T. Kurita, K. Matsuo [et al.] // *Circulation.* – 1998. – V. 97. – P. 1581–1588.
475. Shindo T. SUR2 subtype (A and B)-dependent differential activation of the cloned ATP-sensitive K⁺ channels by pinacidil and nicorandil / T. Shindo, M. Yamada, S. Isomoto [et al.] // *Brit. J. Pharmacol.* – 1998. – V. 124, № 5. – P. 985–991.
476. Shyng S.L. Membrane phospholipids control of nucleotide sensitivity of K_{ATP} channels / S.L. Shyng, C.G. Nichols // *Science.* – 1998. – V. 282. – P. 1138–1141.
477. Sica D.A. Minoxidil: an underused vasodilator for resistant or severe hypertension / D.A. Sica. // *J Clin Hypertens.* – 2004. – V. 6. – P. 283–287.
478. Simpson D. Nicorandil: a review of its use in the management of stable angina pectoris, including high-risk patients / D. Simpson, K. Wellington // *Drugs.* – 2004. – V. 64. – P. 1941–1955.
479. Skak K. Improved beta-cell survival and reduced insulinitis in a type 1 diabetic rat model after treatment with a beta-cell-selective K(ATP) channel opener / K. Skak, C.F. Gotfredsen, D. Lundsgaard, J.B. Hansen, J. Sturis, H. Markholst // *Diabetes.* – 2004. – V. 53. – P. 1089–1095.
480. Smith K.J. Coronary spasm and acute myocardial infarction due to a mutation (V734I) in the nucleotide binding domain 1 of ABCC9 / K.J. Smith, A.J. Chadburn, A. Adomaviciene, P. Minorette, L. Vignali, E. Emanuele, P. Tammaro // *Int. J. Cardiol.* – 2013. – V. 168, № 4. – P. 3506–3513.
481. Sobey C.G. Potassium channel function in vascular disease / C.G. Sobey // *Arterioscler. Tromb. Vasc. Biol.* – 2001. – V. 21. – P. 28–38.
482. Solaini G. Biochemical dysfunction in heart mitochondria exposed to ischaemia

- and reperfusion / G. Solaini, D.A. Harris // *Biochem. J.* – 2005. – V. 9. – P. 377–394.
483. Soni H. Cardioprotective effect with carbon monoxide releasing molecule-2 (CORM-2) in isolated perfused rat heart: Role of coronary endothelium and underlying mechanism / H. Soni, P. Patel, A.C. Rath, M. Jain, A.A. Mehta // *Vascul. Pharmacol.* – 2010. – V. 53, № 1–2. – P. 68–76.
484. Stanley W.C. Myocardial substrate metabolism in the normal and failing heart / W.C. Stanley, F.A. Recchia, G.D. Lopaschuk // *Physiol. Rev.* – 2005. – V. 85. P.1093–1129.
485. Steenbergen C. Correlation between cytosolic free calcium, contracture, ATP, and irreversible ischemic injury in perfused rat heart / C. Steenbergen, E. Murphy, J.A. Watts, R.E. London // *Circ. Res.* – 1990. – V. 9. – P. 135–146.
486. Steensrud T. Replacing potassium with nicorandil in cold St. Thomas' Hospital cardioplegia improves preservation of energetics and function in pig hearts / T. Steensrud, D. Nordhaug, K.V. Husnes, E. Aghajani, D.G. Sorlie // *Ann. Thorac. Surg.* – 2004. – V. 77. – P. 1391–1397.
487. Storey N.M. Kir6.2 limits Ca(2+) overload and mitochondrial oscillations of ventricular myocytes in response to metabolic stress / N.M. Storey, R.C. Stratton, R.D. Rainbow, N.B. Standen, D. Lodwick // *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* – 2013. – V. 305, № 10. – P. H1508–1518.
488. Stroka D.M. HIF-1 is expressed in normoxia tissue and displays an organ-specific regulation under systemic hypoxia / D.M. Stroka, T. Burkhardt, I.Desballerts // *FASEB J.* – 2001. – V. 15. – P. 2445–2453.
489. Strutynska N.A. New Fluorine-Containing Openers of ATP-sensitive Potassium Channels Flocalin and Tioflocalin Inhibit Calcium-Induced Mitochondrial Pore Opening in Rat Hearts / N.A. Strutynska, R.B. Strutynskyi, S.V. Chorna, O.M. Semenykhina, L.F. Mys, O.O. Moibenko, V.F. Sagach // *Int. J. Phys. Pathophys.* – 2014. – V.5, №4. – P.334-343.
490. Strutynskyi R.B. Effect of ATP-Sensitive Potassium Channel Activation by Flocalin on the Functioning of the Cardiovascular System / R.B. Strutynskyi, N.A. Strutynska, A.P. Neshcheret, O.O. Moibenko // *Int. J. Phys. Pathophys.* – 2013. –

V.4, №4. – P. 1-6.

491. Strutynskyi R.B. Biochemical Mechanisms of Cardioprotective Action of the Drug Product Flocalin, ATP-Sensitive K^+ Channel Opener, in Myocardial Ischemia – Reperfusion / R.B. Strutynskyi, A.V. Kotsuruba, R.A. Rovenets, N.A. Strutynska, Yu.L. Yagupolskii, V.F. Sagach, O.O. Moibenko // *Int. J. Phys. Pathophys.* – 2014. – V.5, №3. – P.231-244.
492. Strutynskyi R.B. Cardioprotective Effects of ATP-Sensitive Potassium Channels Activation in Experiments in Vivo: Influence on Biochemical Parameters of Blood Following Ischemia-Reperfusion of Myocardium / R.B.Strutynskyi, A.V. Kotsuruba, A.P. Neshcheret, A.N. Shysh, R.A. Rovenets, A.A. Moibenko // *Int J Phys Pathophys.* – 2010. –V.1, №4. – P.305-313.
493. Strutynskyi R.B. Cardioprotective effects of flocalin in in vivo experiments: influence of the hemodynamic and on the damage of myocardium under ischemia-reperfusion / R.B. Strutynskyi, A.P. Neshcheret, L.V. Tumanovska, R.A. Rovenets, A.A. Moibenko // *Int. J. Phys. Pathophys.* – 2010. – V1, №3. – C. 211-218.
494. Strutynskyi R.B. Cardioprotective effects of the new fluorine-containing opener of K_{ATP} channels flokalin / R.B. Strutynskyi, O.O. Moybenko // 8-th Meeting of France – New EU Members, 16-th JMRC Symposium “New Frontiers in Cardiovascular Research”, 5th – 7th june, Krakow, Poland. – 2008. – P.84-85
495. Strutynskyi R.B. Cardioprotective effects of the new fluorine-containing opener of K_{ATP} channels flocalin / R.B. Strutynskyi, O.O. Moybenko // *Биологически активные вещества: фундаментальные и прикладные вопросы получения и применения*, 23-28 травня 2011 р., Новий Світ, Україна, С.609-610.
496. Strutynskyi R.B. Design of new openers of ATP-sensitive potassium channels of the cell membranes / R.B. Strutynskyi, N.A. Strutynska, O.P. Maximyuk, M.O. Platonov, O.M. Boyko, A.V. Vasylchenko, I.N. Fedyanovich, V.E. Dosenko, O.A. Krishtal // *Sci. innov.* 2016, 12(4): 36-44.
497. Strutynskyi R.B. Influence of new opener of K_{ATP} channels of flocalin on a hemodynamic and metabolism in dogs / R.B. Strutynskyi, R.A. Rovenets, S.B. Frantsuzova, A.V. Kotsiuruba, A.P. Neshcheret, A.A. Moibenko // *Научные труды*

- III съезда физиологов СНГ. Физиология и здоровье человека, Ялта, Украина, 1-6 октября 2011 г., С.130.
498. Strutyński R.B. Vasodilatation Effects of Fluorine-Containing K_{ATP} Channels Opener of Flocalin / R.B. Strutyński // *Int J Phys Pathophys.* – 2011. – V.2. – №1. – P. 69-77.
 499. Su C. Effect of Diazoxide Preconditioning on Cultured Rat Myocardium Microvascular Endothelial Cells against Apoptosis and Relation of PI3K/Akt Pathway / C. Su, T. Xia, S. Ren, S. Qing, D. Jing, H. Lian, Q. Bin, Z. Yuan, Z. Xiang // *Balkan. Med. J.* – 2014. – V. 31, № 1. – P. 83–87.
 500. Sudoh K. Different effect of anticholinergic agents and K^+ channel openers on urinary bladder response to pelvic nerve stimulation in anaesthetized dogs / K. Sudoh, N. Masuda, W. Uchida // *J. Auton. Pharmacol.* – 1997. – V. 17. – P. 91–96.
 501. Sun H.S. Neuronal $K(ATP)$ channels mediate hypoxic preconditioning and reduce subsequent neonatal hypoxic-ischemic brain injury / H.S. Sun, B. Xu, W. Chen [et al.] // *Exp. Neurol.* – 2015. – V. 263. – P. 161–171.
 502. Sun J.M. Reduction of isoproterenol-induced cardiac hypertrophy and modulation of myocardial connexin43 by a $KATP$ channel agonist / J.M. Sun, C.M. Wang, Z. Guo [et al.] // *Mol. Med. Rep.* – 2015. – V. 11, № 3. – P. 1845–1850.
 503. Suryapranata H. Coronary haemodynamics and vasodilatory profile of a potassium channel opener in patients with coronary artery disease / H. Suryapranata // *Eur. Heart J.* – 1993. – V. 14. – P. 16–21.
 504. Suzuki M. Role of sarcolemmal $K(ATP)$ channels in cardioprotection against ischemia/reperfusion injury in mice / M. Suzuki, N. Sasaki, T. Miki[et al.] // *J. Clin. Invest.* – 2002. – V. 109. – P. 509–516.
 505. Taegtmeyer H. Switching metabolic genes to build a better heart / H. Taegtmeyer // *Circulation.* – 2002. – V. 106. – P. 2043–2045.
 506. Takano H. Differential role of K_{ATP} channels in late preconditioning against myocardial stunning and infarction in rabbits / H. Takano, X.-L. Tang, R. Bolli // *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* – 2000. – V. 279. – P. 2350–2359.
 507. Takano H. Intracoronary administration of oxygen radicals induced late

- preconditioning against stunning in conscious rabbits / H. Takano, X.-L. Tang, Y. Qiu [et al.] // *Circulation*. – 1997. – V. 96, Suppl 1. – P. 1256–1257.
508. Takase B. Arachidonic acid metabolites in acute myocardial infarction / B. Takase, T. Maruyama, A. Kurita [et al.] // *Angiology*. – 1996. – V. 47, № 7. – P. 649–661.
509. Tan K. CXC chemokine ligand 16 as a prognostic marker in patients with intermediate coronary artery lesions: a 2-year follow-up study / K. Tan, S. Lu, Y. Chen [et al.] // *Tohoku J. Exp. Med.* – 2011. – V. 223, № 4. – P. 277–283.
510. Tanno M. Contribution of both the sarcolemmal K(ATP) and mitochondrial K(ATP) channels to infarct size limitation by K(ATP) channel openers: differences from preconditioning in the role of sarcolemmal K(ATP) channels / M. Tanno, T. Miura, A. Tsuchida [et al.] // *Naunyn Schmiedebergs Arch. Pharmacol.* – 2001. – V. 364, № 3. – P. 226–232.
511. Taylor P.D. Selective impairment of acetylcholine-mediated endothelium-dependent relaxation in isolated resistance arteries of the streptozotocin-induced diabetic rat / P.D. Taylor, J.E. Graves, L. Poston // *Clin. Sci. (Lond)*. – 1995. – V. 88, № 5. – P. 519–524.
512. Teramoto N. Effects of levcromacalim and nucleotide diphosphates on glibenclamide-sensitive K^+ channels in pig uretal myocytes / N. Teramoto, G. McMurray, A.F. Brading // *Br. J. Pharmacol.* – 1997. – V. 120, № 7. – P. 1229–1240.
513. Terzic A. Cardiac ATP-sensitive K^+ channels: regulation by intracellular nucleotides and K^+ channel-opening drugs / A. Terzic, A. Jahangir, Y. Kurachi // *Am. J. Physiol.* – 1995. – V. 269 (Cell. Physiol. 38), № 3. – P. C525–C545.
514. Teshima Y. Mitochondrial ATP-sensitive potassium channel activation protects cerebellar granule neurons from apoptosis induced by oxidative stress / Y. Teshima, M. Akao, R.A. Li [et al.] // *Stroke*. – 2003. – V. 34, № 7. – P. 1796–1802.
515. Tester D.J. Loss-of-function mutations in the KCNJ8-encoded Kir6.1 K(ATP) channel and sudden infant death syndrome / D.J. Tester, B.H. Tan, A. Medeiros-Domingo [et al.] // *Circ. Cardiovasc. Genet.* – 2011. – V. 4. – P. 510–515.
516. Thomas P.M. Mutations in the sulfonylurea receptor gene in familial persistent

- hyperinsulinemic hypoglycemia of infancy / P.M. Thomas, G.J. Cote, N. Wohllk [et al.] // *Science*. – 1995. – V. 268. – P. 426–429.
517. Ton Q.V. Recent insights on circulating catecholamines in hypertension / Q.V. Ton, S.R. Hammes // *Curr. Hypertens. Rep.* – 2014. – V. 16, № 12. – P. 498.
518. Tong H. Ischemic preconditioning activates phosphatidylinositol-3-kinase upstream of protein kinase C / H. Tong, W. Chen, C. Steenbergen, E. Murphy // *Circ. Res.* – 2000. – V. 87, № 4. – P. 309–315.
519. Trapp S. A metabolic sensor in action: news from the ATP-sensitive K^+ channel / S.Trapp, F.M. Ashcroft // *News. Physiol. Sci.* – 1997. – V. 2. – P. 255–263.
520. Tricarico D. Impairment of skeletal muscle ATP-sensitive K^+ channels in patients with hypokalemic periodic paralysis / D. Tricarico, S. Servidei, P. Tonali, R.K. Jurkat, D.C. Camerino // *J. Clin. Invest.* – 1999. – V. 103. – P. 675–682.
521. Tricarico D. The biophysical and pharmacological characteristics of skeletal muscle ATP-sensitive K^+ channels are modified in K^+ -depleted rat, an animal model of hypokalemic periodic paralysis / D. Tricarico, S. Pierno, R. Mallamaci [et al.] // *Mol. Pharmacol.* – 1998. – V. 54. – P. 197–206.
522. Trigo-Rocha F. The effect of intracavernous injection of potassium channel openers in monkeys and dogs / F. Trigo-Rocha, C.F. Donatucci, G.L. Hsu, L. Nunes, T.F. Lue, E.A.Tanagho // *Int. J. Impot. Res.* – 1995. – V. 7. – P. 41–48.
523. Turcanu V. Nitric oxide synthase inhibition by haem oxygenase decreases macrophage nitric-oxide-dependent cytotoxicity: a negative feedback mechanism for the regulation of nitric oxide production / V.Turcanu, M. Dhouib, P.Poindron // *Res. Immunol.* – 1998. – V. 149, № 7–8. – P. 741–744.
524. Ueda H. Intravenous nicorandil can reduce the occurrence of ventricular fibrillation and QT dispersion in patients with successful coronary angioplasty in acute myocardial infarction / H. Ueda, Y. Nakayama, K. Tsumura, K. Yoshimaru, T. Hayashi, J. Yoshikawa // *Can. J. Cardiol.* – 2004. – V. 20. – P. 625–629.
525. Urenjak J. Pharmacological modulation of voltage-gated Na^+ channels: a rational and effective strategy against ischemic brain damage / J. Urenjak, T. P. Obrenovitch // *Pharmacol. Rev.* – 1996. – V. 48, № 1. – P. 21–67.

526. Van der Vusse G.J. Cardiac fatty acid uptake and transport in health and disease / G.J. Van der Vusse, M. Van Bilsen, J.F. Glatz // *Cardiovasc. Res.* – 2000. – V. 45. – P. 279–293.
527. Varadi A. Intracellular ATP-sensitive K⁺ channels in mouse pancreatic β cells: against a role in organelle cation homeostasis / A. Varadi, A. Grant, M. McCormack [et al.] // *Diabetologia.* – 2006. – V. 49. – P. 1567–1577.
528. Veltkamp R. Potassium channel activators protect the N-methyl-D-aspartate-induced cerebral vascular dilatation after combined hypoxia and ischemia in piglets / R. Veltkamp, F. Domoki, F. Bari, D.W. Busija // *Stroke.* – 1998. – V. 29. – P. 837–842.
529. Venkateswarlu K. Potassium channels and human corporeal smooth muscle cell tone: diabetes and relaxation of human corpus cavernosum smooth muscle by adenosine triphosphate sensitive potassium channel openers / K. Venkateswarlu, A. Giraldi, W. Zhao [et al.] // *J. Urol.* – 2002. – V. 168. – P. 355–361.
530. Ventura-Clapier R. Energy metabolism in heart failure / R. Ventura-Clapier, A. Garnier, V. Veksler // *J. Physiol.* – 2004. – V. 555, № 1. – P. 1–13.
531. Vigorito C. Metabolic and hemodynamic effects of peptide leucotriene C₄ and D₄ in man // C. Vigorito, A. Giordano, R. Cirillo [et. al.] // *Int. J. Clin. Lab. Res.* – 1997. – V. 27, № 3. – P. 178–184.
532. Villareal D.T. Kir6.2 variant E23K increases ATP-sensitive K⁺ channel activity and is associated with impaired insulin release and enhanced insulin sensitivity in adults with normal glucose tolerance / D.T. Villareal, J.C. Koster, H. Robertson [et. al.] // *Diabetes.* – 2009. – V. 58. – P. 1869–1878.
533. Vinten-Johansen J. Postconditioning: a mechanical maneuver that triggers biological and molecular cardioprotective responses to reperfusion / J. Vinten-Johansen // *Heart Fail. Rev.* – 2007. – V. 12. – P. 235–244.
534. Vivaudou M. Structure and function of ATP-sensitive K⁺ channels / M. Vivaudou, C.J. Moreau, A. Terzic // In: Kew J, Davies C, editors. *Ion channels: from structure to function.* – Oxford: Oxford University Press, 2009. – P. 454–473.
535. Voitychuk O.I. Effects of ATP-dependen potassium channel activator flocalin

- include sodium and calcium channels inhibition in cardiomyocytes / O.I. Voitychuk, R.B. Strutynskyi, Y.M. Shuba // *Biophysical J.* 2011; 100(3): 433a.
536. Voitychuk O.I. Effects of fluorine-containing opener of ATP-sensitive potassium channels, pinacidil-derivative flocalin, on cardiac voltage-gated sodium and calcium channels / O.I. Voitychuk, R.B. Strutynskyi, O.O. Moibenko, Y.M. Shuba // *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol.* – 2012. – V.385. – №11. – P. 1095-1102.
537. Voitychuk O.I. Regulation of the excitability of neonatal cardiomyocytes by N-stearyl- and N-oleylethanolamines / O.I. Voitychuk, V.S. Asmolkova, N.M. Gula [et. al.] // *Fiziol. Zh.* – 2009. – V. 55, № 3. – P. 55–66.
538. Voitychuk O.I. Sarcolemmal cardiac KATP channels as a target for the cardioprotective effects of the fluorine-containing pinacidil analogue flocalin / O.I. Voitychuk, R.B. Strutynskyi, L.M. Yagupolskii, A. Tinker, O.O. Moibenko, Y.M. Shuba // *Brit. J. Pharmacol.* – 2011. – V.162. – №3. – P. 701-711.
539. Voronkov L. Impact of KCNJ11 gene polymorphisms of ATP-sensitive potassium channel on left ventricular end-diastolic volume and mass in chronic systolic heart failure / L. Voronkov, V. Dosenko, I. Mazur, R. Strutynskyi, N.Horovenko // *Heart Failure Winter Research Meeting.* – 21-23 january. – 2016. – Les Diablerets, Switzerland / *HFA Winter Meeting on Translation Heart Failure research Abstract programme.* – P. 25.
540. Wajima T. Reduction of myocardial infarct size by tetrahydrobiopterin: possible involvement of mitochondrial KATP channels activation through nitric oxide production / T. Wajima, S. Shimizu, T. Hiroi, M. Ishii, Y. Kiuchi // *J. Cardiovasc. Pharmacol.* – 2006. – V. 47, № 2. – P. 243–249.
541. Wajima Z. Intravenous nicorandil prevents thiamylal-fentanyl-induced bronchoconstriction in humans / Z. Wajima, T. Yoshikawa, A.Ogura [et. al.] // *Crit. Care. Med.* – 2003. – V. 31. – P. 485–490.
542. Wakatsuki T. Vasopressin modulates K^+ -channel activities of cultured smooth muscle cells from porcine coronary artery / T. Wakatsuki, Y. Nakaya, I. Inoue // *Am. J. Physiol.* – 1992. – V. 263 (Heart Circ. Physiol. 32), № 2. – P. H491–H496.
543. Wakili R. Recent advances in the molecular pathophysiology of atrial fibrillation /

- R. Wakili, N. Voigt, S. Kääh, D. Dobrev, S. Nattel / J. Clin. Invest. 2011. – V. 121, №8. – P. 2955–2968.
544. Wang H. A new ATP-sensitive potassium channel opener protects endothelial function in cultured aortic endothelial cells / H. Wang, C. Long, Z. Duan, C. Shi, G. Jia, Y Zhang // Cardiovasc. Res. – 2007. – V. 73, № 3. – P. 497–503.
545. Wang J.K. Postconditioning with sevoflurane protects against focal cerebral ischemia and reperfusion injury involving mitochondrial ATP-dependent potassium channel and mitochondrial permeability transition pore / J.K. Wang, H.F. Wu, H. Zhou [et. al.] // Neurol. Res. – 2015. – V. 37, № 1. – P. 77–83.
546. Wang S. Dual roles of mitochondrial K_{ATP} channels in diazoxide mediated protection in isolated rabbit hearts / S. Wang, James Cone, Yongge Liu // Am. J. Physiol. (Heart Circ. Physiol.). – 2001. – V. 280. – P. H246–H256.
547. Wang Y. Mitochondrial K(ATP) channel as an end effector of cardioprotection during late preconditioning: triggering role of nitric oxide / Y. Wang, M. Kudo, M. Xu, A. Ayub, M. Ashraf // J. Mol. Cell. Cardiol. – 2001. – V. 33, № 11. – P. 2037–2046.
548. Wang Y. Role of protein kinase C in mitochondrial K_{ATP} channel-mediated protection against Ca^{2+} overload injury in rat myocardium / Y. Wang, M. Ashraf // Circ. Res. – 1999. – V. 84. – P. 1156–1165.
549. Wang Y.G. Activation of mitochondrial ATP-sensitive K^+ channel for cardiac protection against ischemic injury is dependent on protein kinase C activity / Y.G. Wang, K. Hirai, M. Ashraf // Circ. Res. – 1999. – V. 85, № 8. – P. 731–741.
550. Waza A.A. Protein kinase C (PKC) mediated interaction between connexin43 (Cx43) and $K(+)ATP$ channel subunit (Kir6.1) in cardiomyocyte mitochondria: Implications in cytoprotection against hypoxia induced cell apoptosis / A.A. Waza, K. Andrabi, M.U. Hussain / Cell. Signal. – 2014. – V. 26, № 9. – P. 1909–1917.
551. Webster K.A. Mitochondrial membrane permeabilization and cell death during myocardial infarction: roles of calcium and reactive oxygen species / K.A. Webster // Future Cardiol. – 2012. – V. 8, № 6 – P. 863–884.
552. Weiss J. Functional compartmentation of glycolytic versus oxidative metabolism

- in isolated rabbit heart / J. Weiss, B. Hiltbrand // J. Clin. Invest. – 1985. – V. 75. – P. 176–181.
553. West M. Nitric oxide prevent mitochondrial permeability transition during ischemic-reperfusion: implication for the cardioprotective effects of late preconditioning / M. West, G. Rokosh, D. Clark // Circulation. – 2004. – V. 110. – P. III236.
554. Wickenden A.D. Potassium channels as anti-epileptic drug targets / A.D. Wickenden // Neuropharmacology. – 2002. – V. 43. – P. 1055–1060.
555. Williams A.J. Attenuation of nocturnal asthma by cromakalim / A.J. Williams, T.H. Lee, G.M. Cochrane [et al.] // Lancet. – 1990. – V. 336. – P. 334–336.
556. Wojdan A. Comparison of the potassium channel openers, WAY-133537, ZD6169, and celikalim on isolated bladder tissue and in vivo bladder instability in rat / A. Wojdan, C. Freeden, M. Woods [et al.] // J. Pharmacol. Exp. Ther. – 1999. – V. 289. – P. 1410–1418.
557. Xi H.L. Relationship between dilated cardiomyopathy and the E23K and I337V polymorphisms in the Kir6.2 subunit of the KATP channel / H.L. Xi, J.F. Liu, L. Li, J. Wan // Genet. Mol. Res. – 2013. – V. 12, № 4 – P. 4383–4392.
558. Xia Y. Distinct KATP channels mediate the antihypertrophic effects of adenosine receptor activation in neonatal rat ventricular myocytes / Y. Xia, S. Javadov, T.X. Gan, T. Pang, M.A. Cook, M. Karmazyn // J. Pharmacol. Exp. Ther. – 2007. – V. 320, № 1 – P. 14–21.
559. Xu X. Characterization of the ATP-inhibited K^+ current in canine coronary smooth muscle cell / X. Xu, K.S. Lee // Pflugers Arch. – 1994. – V. 427, № 1–2. – P. 110–120.
560. Yagupolskii L.M. Fluorinated Analogs of Pinacidil: Evolution of Drug Development from the Laboratory to Production / L.M. Yagupolskii, N.Yu. Gorobets, K.I. Petko, K.S. Ostras, I.I. Maletina, V.L. Makitruk, A.S. Shalamay, R.B. Strutynskiy, O.O. Moybenko // 3rd International Conference on Drug Discovery and Therapy, February 7th - 10th, 2011, Dubai, UAE
561. Yagupolskii L.M. Fluorine-containing cardiovascular drugs R. Filler et al.

- Organofluorine compounds in medicinal chemistry and biomedical applications // L.M. Yagupolskii, I.I. Maletina, B.M. Klebanov. - Amsterdam-London- New York-Tokyo: Elsevier Science Publishers B.V., 1993. - P. 73-99.
562. Yamada S. Genetic ablation of KATP channels precipitates fulminant left ventricular failure with hepatopulmonary edema and death under pressure overload / S. Yamada, G.C. Kane, T. Miki, S. Seino, A. Terzic // *Circulation*. – 2004. – V. 110. – P. 196 III.
563. Yamada S. Protection conferred by myocardial ATP-sensitive K⁺ channels in pressure overload-induced congestive heart failure revealed in KCNJ11 Kir6.2-null mutant / S. Yamada, G.C. Kane, A. Behfar [et al.] // *J. Physiol. (Lond)*. – 2006. – V. 577(Pt 3). – P. 1053–1065.
564. Yang J. Cardioprotective effects of single oral dose of nicorandil before selective percutaneous coronary intervention / J. Yang, J. Zhang, W. Cui [et al.] // *Anadolu. Kardiyol. Derg.* – 2015. – V. 15, № 2. – P. 125–131.
565. Yang X.M. Multiple, brief coronary occlusions during early reperfusion protect rabbit hearts by targeting cell signaling pathways / X.M. Yang, J.B. Proctor, L. Cui [et al.] // *J. Am. Coll. Cardiol.* – 2004. – V. 44. – P. 1103–1110.
566. Yang Z. Electrophysiologic effects of nicorandil on the guinea pig long QT1 syndrome model / Z. Yang, G. Shi, C. Li, H. Wang, K. Liu, Y. Liu // *J. Cardiovasc. Electrophysiol.* – 2004. – V. 15. – P. 815–820.
567. Yellon D.M. Preconditioning the myocardium: from cellular physiology to clinical cardiology / D.M. Yellon, J.M. Downey // *Physiol. Rev.* – 2003. – V. 83. – P. 1113–1151.
568. Yokoshiki H. ATP-sensitive K⁺ channels in pancreatic, cardiac, and vascular smooth muscle cells / H. Yokoshiki, M. Sunagawa, T. Seki, N. Sperelakis // *Am. J. Physiol. Cell. Physiol.* – 1998. – V. 274. – P. 25–37.
569. Yoshida H. K ATP channels of primary human coronary artery endothelial cells consist of a heteromultimeric complex of Kir6.1, Kir6.2, and SUR2B subunits / H. Yoshida, J.E. Feig, A. Morrissey, I.A. Ghiu, M. Artman, W.A. Coetzee // *J. Mol. Cell. Cardiol.* – 2004. – V. 37. – P. 857–869.

570. Zhang D.X. Characteristics and superoxide-induced activation of reconstituted myocardial mitochondrial ATP-sensitive potassium channels / D.X. Zhang, Y.-F. Chen, W.B. Campbell, A.-P. Zou, G.J. Gross, P.-L. Li // *Circ. Res.* – 2001. – V. 89, № 12. – P. 1177–1183.
571. Zhang J. CGX-1051, a peptide from *Conus* snail venom, attenuates infarction in rabbit hearts when administered at reperfusion / J.Zhang, X.-M.Yang, G.S. Liu [et al.] // *J. Cardiovasc. Pharmacol.* – 2003. – V. 42. – P. 764–771.
572. Zhang Li. Protective Effect of Ischemic Postconditioning against Ischemia Reperfusion-Induced Myocardium Oxidative Injury in IR Rats // Li Zhang, Jiangwei Ma, Huajin Liu // *Molecules.* – 2012. – V. 17, № 4. – P. 3805–3817.
573. Zhao J.L. Nicorandil reduces myocardial no-reflow by protection of endothelial function via the activation of KATP channel / J.L. Zhao, Y.J. Yang, J.L. Chen [et al.] // *Clin. Chim. Acta.* – 2006. – V. 374, № 1–2. – P. 100–105.
574. Zhao Z. Pre-treatment of a single high-dose of atorvastatin provided cardioprotection in different ischaemia/reperfusion models via activating mitochondrial KATP channel / Z. Zhao, W. Cui, H. Zhang [et al.] // *Eur. J. Pharmacol.* – 2015. – V. 751. – P. 89–98.
575. Zhou M. Different localization of ATP sensitive K⁺ channel subunits in rat testis / M. Zhou, H.J. He, O. Tanaka [et al.] // *Anat. Rec. (Hoboken).* – 2011. – V. 294, № 4. – P. 729–737.
576. Zhou X. A1 adenosine receptor negatively modulates coronary reactive hyperemia via counteracting A₂A-mediated H₂O₂ production and KATP opening in isolated mouse hearts / X. Zhou, B. Teng, S. Tilley, S.J. Mustafa // *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* – 2013. – V. 305, № 11. – P. H1668–1679.
577. Zhou X. Direct evidence that initial oxidative stress triggered by preconditioning contributes to a second window of protection by endogenous antioxidant enzymes in myocytes / X. Zhou, X. Zhai, M. Ashraf // *Circulation.* – 1996. – V. 93, № 6. – P. 1177–1184.
578. Zimmermann P.A. Increased myogenic tone and diminished responsiveness to ATP-Sensitive K⁺ channel openers in cerebral arteries from diabetic rats / P.A.

- Zimmermann, H.J. Knot, A.S. Stevenson, M.T. Nelson // *Circ. Res.* – 1997. – V. 81. – P. 996–1004.
579. Zingman L.V. Kir6.2 is required for adaptation to stress / L.V. Zingman, D.M. Hodgson, P.H. Bast [et al.] // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* – 2002. – V. 99, № 20. – P. 13278–13283.
580. Zingman L.V. Stress without distress: homeostatic role for KATP channels / L.V. Zingman, D.M. Hodgson, A.E. Alekseev, A. Terzic // *Mol. Psychiatry.* – 2003. – V. 8. – P. 253–254.
581. Zöllner J.P. Changes of pH and Energy State in Subacute Human Ischemia Assessed by Multinuclear Magnetic Resonance Spectroscopy / J.P. Zöllner, E. Hattingen, O.C. Singer, U. Pilatus // *Stroke.* – 2015. – V. 46, № 2. – P. 441–446.
582. Zweier J.L. Non/enzymatic nitric oxide synthesis in biological systems / J.L. Zweier, A. Samouilov, P. Kupposamy // *Biochem. Biophys. Acta.* – 1999. – V. 1411. – P. 250–262.

СПИСОК ПУБЛІКАЦІЙ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

1. Струтинский Р.Б., Пивовар С.М. АТФ-зависимые калиевые каналы и их роль как центрального звена кардиопротекции при ишемии-реперфузии миокарда. (С. 206-252). - Мойбенко А.А. и др. Эндогенные механизмы кардиопротекции как основа патогенетической терапии заболеваний сердца // Наукова думка, Київ. – 2008, 518 с. *(Особистий внесок: пошук та аналіз літературних та власних даних, підготовка матеріалів до друку).*
2. Strutynskiy RB, Neshcheret AP, Tumanovska LV, Rovenets RA, Moibenko AA Cardioprotective effects of flocalin in *in vivo* experiments: influence of the hemodynamic and on the damage of myocardium under ischemia-reperfusion // Int J Phys Pathophys. – 2010. – V1, №3. – С. 211-218. *(Особистий внесок: проведення досліджень, обробка отриманих результатів та їх аналіз, підготовка матеріалів до друку).*
3. Strutynskiy R.B., Kotsuruba A.V., Neshcheret A.P., Shysh A.N., Rovenets R.A., Moibenko A.A Cardioprotective Effects of ATP-Sensitive Potassium Channels Activation in Experiments *in Vivo*: Influence on Biochemical Parameters of Blood Following Ischemia-Reperfusion of Myocardium // Int J Phys Pathophys. – 2010. – V.1, №4. – P.305-313. *(Особистий внесок: проведення досліджень, обробка отриманих результатів та їх аналіз, підготовка матеріалів до друку).*
4. Voitychuk O.I., Strutynskiy R.B., Yagupolskii L.M., Tinker A., Moibenko O.O., Shuba Y.M. Sarcolemmal cardiac KATP channels as a target for the cardioprotective effects of the fluorine-containing pinacidil analogue flocalin // Brit J Pharmacol. – 2011. – V.162. – №3. – P. 701-711. *(Особистий внесок: проведення частини досліджень, обробка отриманих результатів та їх аналіз, підготовка матеріалів до друку).*
5. Strutynskiy R.B. Vasodilatation Effects of Fluorine-Containing K_{ATP} Channels Opener of Flocalin // Int J Phys Pathophys. – 2011. – V.2. – №1. –P. 69-77. *(Особистий внесок: проведення досліджень, обробка отриманих результатів та їх аналіз, підготовка матеріалів до друку).*

- результатів та їх аналіз, підготовка матеріалів до друку).*
6. Strutynskyi RB, Kotsiuruba AV, Neshcheret AP, Rovenets RA, Moibenko AA. Changes in Myocardium Metabolism in Ischemia-Reperfusion and Activation of ATP-Sensitive Potassium Channels. Int J Phys Pathophys. 2012; 3(3): 253-267. *(Особистий внесок: проведення досліджень, обробка отриманих результатів та їх аналіз, підготовка матеріалів до друку).*
 7. Voitychuk O.I., Strutynskyi R.B., Moibenko O.O., Shuba Y.M. Effects of fluorine-containing opener of ATP-sensitive potassium channels, pinacidil-derivative flocalin, on cardiac voltage-gated sodium and calcium channels // Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol. – 2012. – V.385. – №11. – P. 1095-1102. *(Особистий внесок: участь у дослідженнях та інтерпретації результатів).*
 8. Strutynskyi R.B., Rovenets R.A., Strutynska N.A, Neshcheret A.P., Moibenko O.O. Effect of ATP-Sensitive Potassium Channel Activation by Flocalin on the Functioning of the Cardiovascular System // Int J Phys Pathophys. – 2013. – V.4, №4. – P. 1-6. *(Особистий внесок: проведення досліджень, обробка отриманих результатів та їх аналіз, підготовка матеріалів до друку).*
 9. Strutynskyi R.B., Kotsuruba A.V., Rovenets R.A., Strutynska N.A., Yagupolskii Yu.L., Sagach V.F., Moibenko O.O. Biochemical Mechanisms of Cardioprotective Action of the Drug Product Flocalin, ATP-Sensitive K⁺ Channel Opener, in Myocardial Ischemia – Reperfusion // Int J Phys Pathophys. – 2014. – V.5, №3. – P.231-244. *(Особистий внесок: проведення досліджень, обробка отриманих результатів та їх аналіз, підготовка матеріалів до друку).*
 10. Strutynska N.A., Strutynskyi R.B., Chorna S.V., Semenykhina O.M., Mys L.F., Moibenko O.O., Sagach V.F. New Fluorine-Containing Openers of ATP-sensitive Potassium Channels Flocalin and Tioflocalin Inhibit Calcium-Induced Mitochondrial Pore Opening in Rat Hearts // Int J Phys Pathophys. – 2014. – V.5, №4. – P.334-343. *(Особистий внесок: проведення досліджень, обробка отриманих результатів та їх аналіз, підготовка матеріалів до друку).*
 11. Хмиль Н.В., Горбачёва О.С., Струтинский Р.Б., Коробейникова М.О., Белослудцева Н.В., Коломыткин О.В., Миронова Г.Д. Изучение влияния

- флокалина на дыхание и калиевый транспорт митохондрий сердца и печени крыс // Биофизика (Biofizika). – 2016. – Т. 61. – № 5, С. 884–888. *(Особистий внесок: ідея дослідження, участь в інтерпретації отриманих результатів).*
12. Gorbacheva O.S., Strutynskyi R.B., Khmil N.V., Belosludtseva N.V., Mursaeva S.V., Korobeynikova M.O., Alilova G.A., Lezhnev E.I., Mironova G.D. Study of the influence of floccalin on the energy and ion exchanges in rat liver mitochondria. // Biological Motility. – Pushchino 2016. – P. 73-77. *(Особистий внесок: участь у дослідженнях та аналізі результатів, підготовка матеріалів до друку).*
 13. Khmil N.V., Gorbacheva O.S., Strutynskyi R.B., Korobeynikova M.O., Belosludtseva N.V., Kolomytkin O.V., and Mironova G.D. A Study of the Effects of Floccalin on Respiration and Potassium Transport of Rat- Heart and Liver Mitochondria // Biophysics. – 2016. – V.61, №6. – P.888–892. *(Особистий внесок: ідея дослідження, участь в інтерпретації отриманих результатів).*
 14. Струтинський Р.Б., О.О. Мойбенко, С.М. Пивовар, В.Є. Досенко, Л.М.Ягупольський. АТФ-чутливі калієві канали та зміни їх функціональної активності при стрептозоточин-викликаному цукровому діабеті // Фізіол. журн. – 2003. – Т.49, №6, С.22-31. *(Особистий внесок: проведення досліджень, обробка отриманих результатів та їх аналіз, підготовка матеріалів до друку).*
 15. Пивовар С.М., Струтинський Р.Б., Мойбенко О.О., Ягупольський Л.М. Вазодилататорні ефекти нових фторвмісних аналогів діазоксиду // Доповіді НАН України, – 2004. – №4, С.183-187. *(Особистий внесок: участь в експерименті, обробка отриманих результатів та їх аналіз, підготовка матеріалів до друку).*
 16. Пивовар С.М., Струтинський Р.Б., Ягупольський Л.М., Мойбенко О.О. Дослідження механізму дії нових фторвмісних аналогів діазоксиду на судинний тонус // Фізіол. журн. – 2004. – Т.50, № 2, С.27-34. *(Особистий внесок: участь в експерименті, обробка отриманих результатів та їх аналіз, підготовка матеріалів до друку).*
 17. Пивовар С.М., Струтинський Р.Б., В.І. Коржов, О.О. Мойбенко. Вплив нових

- активаторів АТФ-чутливих калієвих каналів на окиснювальне фосфорилування мітохондрій *in vitro* // Клінічна та експериментальна патологія. – 2004. – Т.ІІІ, №2, Ч.1, С.55-57. *(Особистий внесок: участь в експерименті, обробка отриманих результатів та їх аналіз, підготовка матеріалів до друку).*
18. Пивовар С.М., Струтинський Р.Б., Шиш А.М., Ягупольський Л.М., Мойбенко О.О. Дослідження протекторних властивостей фторованого активатора K_{ATP} каналів: можливі механізми захисту // Збірник робіт: “Гомеостаз: фізіологія, патологія, фармакологія і клініка”. Одеса-2005 – С.55-58. *(Особистий внесок: участь в експерименті, обробка отриманих результатів та їх аналіз, підготовка матеріалів до друку).*
 19. Струтинський Р.Б., Пивовар С.Н., Ровенец Р.А., Піскун О.В., Ягупольський Л.М., Мойбенко О.О. Вплив активатора аденозинтрифосфатчутливих калієвих каналів флокаліну на функціонування ізольованого серця // Фізіол. журн. – 2005. – Т.51, № 6. – С.18-24. *(Особистий внесок: проведення досліджень, обробка отриманих результатів та їх аналіз, підготовка матеріалів до друку).*
 20. Пивовар С.М., Коржов В.І., Струтинський Р.Б., Ягупольський Л.М., Мойбенко О.О. Вплив фторвмісних активаторів мітохондріальних аденозинтрифосфатчутливих калієвих каналів на окисне фосфорилування // Фізіол. журн. – 2006. – Т.52, №3. – С.25-33. *(Особистий внесок: участь в експерименті, обробка отриманих результатів та їх аналіз, підготовка матеріалів до друку).*
 21. Мойбенко О.О., Струтинський Р.Б., Ягупольський Л.М., Мохорт М.А. Розробка та підготовка до впровадження нового вітчизняного кардіопротекторного препарату – фторвмісного активатора АТФ-залежних калієвих каналів Флокалін // Наука та інновації. – 2006. – Т.2, №4. – С.77-82. *(Особистий внесок: проведення досліджень, обробка отриманих результатів та їх аналіз, підготовка матеріалів до друку).*
 22. Л.М. Ягупольський, И.И. Малетина, К.И. Петко, О.Н. Денисенко, А.А.

- Мойбенко, Р.Б. Струтинский, С.Н. Пивовар, Е.В. Тарасова. Аналоги активатора калиевых каналов диазоксида содержащие дифторметокси и трифторметокси группы // Журнал органічної та фармацевтичної хімії. – 2008. – Т.6, випуск 2 (22). – С. 37-47. *(Особистий внесок: експериментальне дослідження специфічної активності нових сполук).*
23. Струтинський Р.Б., Пивовар С.М., Тумановська Л.В., Мойбенко О.О. Кардіопротекторні ефекти флокаліну: відносна роль активації сарколемальних та мітохондріальних аденозинтрифосфатзалежних калієвих K_{ATP} каналів // Фізіол. журн. – 2008. – Т.54, №6. – С.15-23. *(Особистий внесок: проведення досліджень, обробка отриманих результатів та їх аналіз, підготовка матеріалів до друку).*
24. Мойбенко О.О., Струтинський Р.Б., Ягупольський Л.М., Мохорт М.А., Шаламай А.С. Організація заводського виготовлення препарату Флокалін - нового вітчизняного міотропного спазмолітика і кардіопротектора // Наука та інновації. – 2009. – Т.5, №1. – С.80-84. *(Особистий внесок: проведення досліджень, обробка отриманих результатів та їх аналіз, підготовка матеріалів до друку).*
25. Струтинський Р.Б. Кардіопротекторні ефекти лікарської форми фторвмісного активатора аденозинтрифосфатчутливих калієвих каналів флокаліну // Фізіол. журн. – 2009. – Т.55, №4. – С.83-90. *(Особистий внесок: проведення досліджень, обробка отриманих результатів та їх аналіз, підготовка матеріалів до друку).*
26. Струтинський Р.Б., Нещерет О.П., Тумановська Л.В., Ровенець Р.А., Мойбенко О.О. Кардіопротекторні ефекти флокаліну в експериментах *in vivo*: вплив на гемодинаміку та ураження міокарда за умов його ішемії-реперфузії // Фізіол. журн. – 2009. – Т.55, №5. – С.9-16. *(Особистий внесок: проведення досліджень, обробка отриманих результатів та їх аналіз, підготовка матеріалів до друку).*
27. Струтинський Р.Б., Коцюруба А.В., Нещерет О.П., Шиш А.М., Ровенець Р.А., Мойбенко О.О. Кардіопротекторні ефекти активації

- аденозинтрифосфатзалежних калієвих каналів в експериментах *in vivo*: вплив на біохімічні параметри крові за умов ішемії-реперфузії міокарда // Фізіол. журн. – 2009. – Т.55, №6. – С.12-19. *(Особистий внесок: проведення досліджень, обробка отриманих результатів та їх аналіз, підготовка матеріалів до друку).*
28. Струтинський Р.Б. Основні кардіопротекторні ефекти нового вітчизняного фторвмісного активатора K_{ATP} каналів – препарату Флокалін // Медична гідрологія і реабілітація. – 2009. – Т.7, №4. – С.4-12. *(Особистий внесок: проведення досліджень, обробка отриманих результатів та їх аналіз, підготовка матеріалів до друку).*
 29. Струтинський Р., Мохорт М., Ягупольський Л., Мойбенко О. Флокалін - новий вітчизняний кардіопротектор // Вісник фармакології та фармацевції. – 2010. – №3. – С.44-56. *(Особистий внесок: проведення досліджень, обробка отриманих результатів та їх аналіз, підготовка матеріалів до друку).*
 30. Струтинський Р.Б. Вазодилататорні ефекти флокаліну – фторвмісного активатора аденозинтрифосфатчутливих калієвих каналів // Фізіол. журн. – 2010. – Т.56, №4. – С.59-65. *(Особистий внесок: проведення досліджень, обробка отриманих результатів та їх аналіз, підготовка матеріалів до друку).*
 31. Струтинський Р.Б., Ровенець Р.А., Нещерет О.П. Вплив нового активатора аденозинтрифосфатчутливих калієвих каналів флокаліну на зміни вмісту глюкози в крові в експерименті // Фізіол. журн. – 2010. – Т.56, №6. – С. 38-47. *(Особистий внесок: проведення досліджень, обробка отриманих результатів та їх аналіз, підготовка матеріалів до друку).*
 32. Струтинський Р.Б., Ровенець Р.А., Нещерет О.П., Тумановська Л.В., Бойчук Т.М., Джуран Б.В., Мойбенко О.О. Вплив лікарської форми флокаліну на перебіг ішемії-реперфузії міокарда // Фізіол. журн. – 2011. – Т.57, №1. – С. 55-65. *(Особистий внесок: проведення досліджень, обробка отриманих результатів та їх аналіз, підготовка матеріалів до друку).*
 33. Струтинський Р.Б., Коцюруба А.В., Нещерет О.П., Ровенець Р.А., Мойбенко

- О.О. Зміни метаболізму в міокарді при ішемії-реперфузії та активації аденозинтрифосфатчутливих калієвих каналів // Фізіол. журн. – 2012. – Т.58, №1. – С. 13-26. *(Особистий внесок: проведення досліджень, обробка отриманих результатів та їх аналіз, підготовка матеріалів до друку).*
34. Струтинський Р.Б., Ровенець Р.А., Мойбенко О.О. Механізми кардіопротекторної дії вітчизняного активатора K_{ATP} каналів Флокаліну // Таврический медико-биологический вестник. – 2012. – Т.15, №3, ч.2(59). – С.226-229. *(Особистий внесок: проведення досліджень, обробка отриманих результатів та їх аналіз, підготовка матеріалів до друку).*
35. Струтинський Р.Б., Мойбенко О.О., Чебанов В. А., Горобець М. Ю. Моделювання промислового процесу виробництва препарату “Флокалін” та визначення його оптимально-ефективної дози для лікування захворювань серця // Наука та інновації. – 2013. – Т.9, №1. С.55-63. *(Особистий внесок: проведення досліджень, обробка отриманих результатів та їх аналіз, підготовка матеріалів до друку).*
36. Струтинський Р.Б., Ровенець Р.А., Н.А. Струтинська, Нещерет О.П., Мойбенко О.О. Вплив активації аденозинтрифосфатчутливих калієвих каналів флокаліном на функцію серцево-судинної системи // Фізіол. журн. – 2013. – Т.59, №1. – С. 11-16. *(Особистий внесок: проведення досліджень, обробка отриманих результатів та їх аналіз, підготовка матеріалів до друку).*
37. Струтинський Р.Б., Нагібін В.С., Струтинська Н.А., Янчій О.Р., Мойбенко О.О. Вплив флокаліну на розвиток апоптозу та некрозу при аноксії-реоксигенації ізольованих неонатальних кардіоміоцитів // Фізіол. журн. – 2013. – Т.59, №3. – С. 3-9. *(Особистий внесок: проведення досліджень, обробка отриманих результатів та їх аналіз, підготовка матеріалів до друку).*
38. Струтинський Р.Б., Коцюруба А.В., Ровенець Р.А., Струтинська Н.А., Ягупольський Ю.Л., Сагач В.Ф., Мойбенко О.О. Дослідження біохімічних механізмів кардіопротекторної дії лікарської форми активатора аденозинтрифосфатчутливих калієвих каналів флокаліну за ішемії-реперфузії

- міокарда // Фізіол. журн. – 2013. – Т.59, №4. – С. 16-27. *(Особистий внесок: проведення досліджень, обробка отриманих результатів та їх аналіз, підготовка матеріалів до друку).*
39. Струтинська Н.А., Струтинський Р.Б., Чорна С.В., Семенихіна О.М., Мись Л.А., Мойбенко О.О., Сагач В.Ф. Нові фторвмісні активатори АТФ-чутливих калієвих каналів флокалін і тіофлокалін пригнічують кальційіндуковане відкривання мітохондріальної пори у серці щурів // Фізіол. журн. – 2013. – Т.59, №6. – С. 3–11. *(Особистий внесок: проведення досліджень, обробка отриманих результатів та їх аналіз, підготовка матеріалів до друку).*
40. Струтинський Р.Б., Струтинська Н.А., Максимюк О.П., Платонов М.О., Бойко О.М., Васильченко О.В., Федянович І. М., Досенко В.Є., Кришталь О.О. Розроблення нових активаторів АТФ-чутливих калієвих каналів клітинних мембран // Наука та інновації. – 2016. – Т.12, №4 – С.37-47. *(Особистий внесок: проведення досліджень, обробка отриманих результатів та їх аналіз, підготовка матеріалів до друку).*
41. Strutynskyi R.B., Strutynska N.A., Maximyuk O.P., Platonov M.O., Boyko O.M., Vasylchenko A.V., Fedyanovich I.N., Dosenko V.E., and Krishtal O.A. Design of new openers of ATP-sensitive potassium channels of the cell membranes // Sci. innov. 2016, 12(4): 36-44. *(Особистий внесок: проведення досліджень, обробка отриманих результатів та їх аналіз, підготовка матеріалів до друку).*
42. Струтинський Р.Б., Ровенець Р.А., Сваричевський О.В., Досенко В.Є. Поширення алельних поліморфізмів генів, що кодують субодиниці K_{ATP} каналів (Phe₃₃₇→Val та Glu₂₃→Lys гена KCNJ11 та Ser₁₃₆₉→Ala гена ABCC8) в українській популяції // Фізіол. журн. – 2017. – Т.63, №3. – С. 3–8. *(Особистий внесок: проведення досліджень, обробка отриманих результатів та їх аналіз, підготовка матеріалів до друку).*
43. Ягупольський Л.М., Малетіна І.І., Петко К.І., Мойбенко О.О., Струтинський Р.Б., Пивовар С.М., Шевчук В.Г., Карвацький І.М., Тарасова К.В. Патент України № 77344 А 61 К 31/54. „Дифторметиловий-3-метил-2Н1,2,4-

- бензотіодіозин-1,1 діоксид”. № а 2005 03296; Заяв. 11.04.2005; Опубл. 15.11.2006. – Промислова власність. – 2006. – №11. *(Особистий внесок: експериментальне дослідження специфічної активності нових сполук).*
44. Струтинський Р.Б., Мойбенко О.О., Ягупольський Ю.Л. Патент України на корисну модель № 59490 А 61 К 31/00. „Спосіб зменшення розміру некротичного ушкодження міокарда при експериментальній ішемії-реперфузії міокарда”. № u 2011 02188; Заяв. 24.02.2011; Опубл. 10.05.2011. – Промислова власність. – 2011. – Бюл. №9. *(Особистий внесок: проведення досліджень, обробка отриманих результатів та їх аналіз, підготовка матеріалів до друку).*
45. Струтинський Р.Б., Мойбенко О.О., Ягупольський Ю.Л. Патент України на корисну модель № 64220 А 61 К 31/00.”Спосіб зниження судинного тонуусу при артеріальній гіпертонії, гострих та хронічних коронарних синдромах” № u 2011 08580; Заяв. 08.07.2011; Опубл. 25.10.2011. – Промислова власність— 2011. – Бюл. №20. *(Особистий внесок: проведення досліджень, обробка отриманих результатів та їх аналіз, підготовка матеріалів до друку).*
46. Струтинський Р.Б., Мойбенко О.О., Ягупольський Ю.Л., Петко К.І., Безпалько Л.В., Шаламай А.С. Патент України на корисну модель № 71067 А 61 К 31/00.”Спосіб зменшення розміру зони інфаркту міокарда при експериментальній ішемії-реперфузії міокарда” № u 2012 04588; Заяв. 12.04.2012; Опубл. 25.06.2012. – Промислова власність. – 2012. – Бюл. №12. *(Особистий внесок: проведення досліджень, обробка отриманих результатів та їх аналіз, підготовка матеріалів до друку).*
47. Мойбенко О.О., Струтинський Р.Б., Ягупольський Ю.Л., Струтинський В.Р., Петко К.І. Патент України на корисну модель № 91257 А 61 К 31/00.”Спосіб попередження інфаркту міокарда при експериментальній гострій ішемії-реперфузії міокарда” № u 2014 01101; Заяв. 06.02.2014; Опубл. 25.06.2014. – Промислова власність. – 2014. – Бюл. №12. *(Особистий внесок: проведення досліджень, обробка отриманих результатів та їх аналіз, підготовка матеріалів до друку).*

48. Струтинський Р.Б., Струтинська Н.А., Сагач В.Ф., Мойбенко О.О., Ягупольський Ю.Л. Патент України на корисну модель № 98022 А 61 К 31/00. «Спосіб попередження кальційіндукованого відкриття мітохондріальної пори у серці» № у 2014 12691; Заяв. 26.11.2014; Опубл. 10.04.2015. – Промислова власність. – 2015. – Бюл. №7. *(Особистий внесок: проведення досліджень, обробка отриманих результатів та їх аналіз, підготовка матеріалів до друку).*
49. Струтинський Р.Б., Мойбенко О.О., Нагібін В.С., Ягупольський Ю.Л. Патент України на корисну модель № 98023 А 61 К 31/00. «Спосіб попередження апоптозу та некрозу за аноксії-реоксигенації ізольованих неонатальних кардіоміоцитів» № у 2014 12692; Заяв. 26.11.2014; Опубл. 10.04.2015. – Промислова власність. – 2015. – Бюл. №7. *(Особистий внесок: проведення досліджень, обробка отриманих результатів та їх аналіз, підготовка матеріалів до друку).*
50. Кришталь О.О., Максимюк О.П., Струтинський Р.Б., Мойбенко О.О., Платонов М.О., Бойко О.М., Васильченко О.В. Патент України на корисну модель №99508 А 61 К 31/00. «Спосіб створення нових активаторів АТФ-залежних калієвих каналів клітинних мембран» № у 2014 13557; Заяв. 17.12.2014; Опубл. 10.06.2015. – Промислова власність. – 2015. – Бюл. №11. *(Особистий внесок: участь у розробленні методу, підготовка до друку).*
51. Струтинський Р.Б., Максимюк О.П., Кришталь О.О., Досенко В.Є, Струтинська Н.А., Платонов М.О., Бойко О.М., Васильченко О.В. Патент України на корисну модель №107758 А 61 К 31/00. «Спосіб відкриття АТФ-чутливих калієвих каналів сарколемальної мембрани клітин» № у 2015 11632; Заяв. 25.11.2015; Опубл. 24.06.2016. – Промислова власність. – 2016. – Бюл. №12. *(Особистий внесок: проведення досліджень, обробка отриманих результатів та їх аналіз, підготовка матеріалів до друку).*
52. Струтинський Р.Б., Максимюк О.П., Кришталь О.О., Досенко В.Є, Струтинська Н.А., Платонов М.О., Бойко О.М., Васильченко О.В. Патент України на корисну модель №107859 А 61 К 31/00. «Спосіб відкриття

АТФ-чутливих калієвих каналів внутрішньої мембрани мітохондрій» № и 2015 12481; Заяв. 17.12.2015; Опубл. 24.06.2016. – Промислова власність. – 2016. – Бюл. №12. (*Особистий внесок: проведення досліджень, обробка отриманих результатів та їх аналіз, підготовка матеріалів до друку*).

Відомості про апробацію матеріалів дисертації:

53. Strutinskii RB, Moibenko AA, Pyvovar SM, Yagupolskii LM. The investigation of vasomotor and cardioprotective effects of new openers of ATP-sensitive K-channels.// 3rd FEPS Congress, 28 june – 3 july 2003, Nice, France (*Постер*).
54. Serebrovskaya T.V., Kurhalyuk N.M., Moibenko A.A., Pivovar S.M., Strutinskii R.B. Effects of mitochondrial K_{ATP} stimulation on miocardial energy supply in rats with different resistance to hypoxia // 5th Int. Conference “Hypoxia in Medicine”, September 26-28, 2003, Innsbruck, Austria (*Публікація тез*).
55. Струтинский Р.Б., А.А. Мойбенко, Пивовар С.Н., Л.М.Ягупольський. Новые активаторы АТФ-зависимых калиевых каналов // Конгресс ассоциации кардиологов стран СНГ: «Фундаментальные исследования и прогресс в кардиологии», 18-20 сентября, 2003г., Санкт-Петербург, Научно-практический журн., “Кардиология СНГ”.– Т. 1. – 2003 (приложение). – С.272-273 (*Постер*).
56. Пивовар СМ., Струтинський РБ., Шиш АМ., Мойбенко ОО., Ягупольський ЛМ. Дослідження вазодилататорних властивостей нових фторвмісних аналогів діазоксиду // Конференція молодих вчених Інституту фізіології ім. ОО Богомольця “Фундаментальні дослідження в сучасній фізіології”, 17-20 листопада 2003, Київ, Україна: Фізіол. журн. – 2003. – Т.50, №3. – С. 109-110 (*Публікація тез*).
57. Пивовар С.Н., Струтинский Р.Б., А.А. Мойбенко, Л.М.Ягупольський. Изменение сосудистого тонуса при активации АТФ-зависимых калиевых каналов // III Всероссийская с международным участием школа-конференция по физиологии кровообращения, 27-30 января 2004г., Москва, Россия, Москва: ФФМ МГУ, Тезисы докладов, 2004, С.78-79 (*Публікація тез*).

58. Струтинский Р.Б., Кукоба Т.В., Мойбенко А.А. Кардиопротекторные эффекты новых активаторов K_{ATP} каналов // XIX съезд физиологического общества им. И.П. Павлова, 20-24 сентября 2004г., Екатеринбург, Россия, Рос. физиол. журн. им. И. М. Сеченова. – 2004. – Т.90, №8. – С.197 (*Постер*).
59. Пивовар С.Н., Струтинский Р.Б., Ровенец Р.А. Исследование влияния новых фторированных активаторов K_{ATP} каналов на деятельность сердца в норме и при ишемии-реперфузии миокарда // «Физиология и медицина», Всероссийская конференция молодых исследователей, 14-16 апреля 2005 г., Санкт-Петербург, Россия, Вестник молодых ученых. – 2005. – С.115 (*Постер*).
60. Пивовар С.Н., Струтинский Р.Б. Фторированные аналоги диазооксида – перспективные активаторы АТФ-чувствительных калиевых каналов // «Биология наука XXI века» 9-тая международная пущинская школа конференция молодых ученых 18-22 апреля 2005 года, Пущино – Сборник тезисов: «Биология наука XXI века». С. – 163-164 (*Публікація тез*).
61. Ryvovar S.N, Korgov V.I., Strutinskii R.B., Moybenko A.A. Changes of the mitochondrial function by the new fluorine-containig K_{ATP} channel openers // “4-th Conference on Mitochondrial physiology” Schrocken, Vorarlberg, Austria 16-20 September 2005 – Mitochondrial Physiology Network 10.9: 1-152. – 2005. – P.81-82 (*Публікація тез*).
62. Струтинський Р.Б., С.М. Пивовар, Р.А. Ровенець, О.О. Мойбенко. Ендогенні механізми кардіопротекції при активації АТФ-чутливих калієвих каналів фторвмісними активаторами // XVII з'їзд Українського фізіологічного товариства з міжнародною участю, Чернівці, 18-20 травня, 2006, Фізіол. журн. – 2006. – Т.52, №2. – С. 99 (*Постер*).
63. Ryvovar S.M., Strutytskyi R.B., Moybenko O.O. The influence of fluorine-containing K_{ATP} channel openers on energetic and contractile function in rat hearts // Joint meeting of the German Physiological Society and the Federation of European Physiological Societies, Acta Physiologica. – Mart 26-29. – Munich 2006. – Vol.186, suppl.1. – P.252 (*Публікація тез*).

64. Струтинський Р.Б. Роль сарколемальних та мітохондріальних K_{ATP} -каналів в розвитку фармакологічного прекодиціювання ізолюваного серця морської свинки // Всеукраїнська конференція «Актуальні питання патологічної фізіології», Ялта, 5-6 жовтня 2006, Труды Крымского государственного университета им. С.И. Георгиевского. – 2006. – Т.142, часть III. – Ст.251-252 (*Публікація тез*).
65. Струтинський Р.Б., Мойбенко О.О., Коцюруба А.В., Даценко В.В., Ровенець Р.А. Кардіопротекторні ефекти лікарської форми нового вітчизняного активатора K_{ATP} -каналів флокаліна // Бюлетень VI читань ім. В.В. Підвисоцького, присвячений до 150-річчя з дня народження. Одеса, 31 травня – 1 червня. – 2007. – С.112-113 (*Усна доповідь*).
66. Strutynskiy R.B., Moybenko O.O. Cardioprotective effects of the new fluorine-containing opener of K_{ATP} channels flokalin // 8-th Meeting of France – New EU Members, 16-th JMRC Symposium “New Frontiers in Cardiovascular Research”, 5th – 7th june, Krakow, Poland. – 2008. – P.84-85 (*Постер*).
67. Р.Б. Струтинський, С.Б. Французова, Р.А. Ровенець, Л.В.Тумановська, О.О. Мойбенко. Флокалін – новий вітчизняний кардіопротектор // V Національний конгрес патофізіологів України з міжнародною участю «Сучасні проблеми патофізіології: від молекулярно-генетичних до інтегративних аспектів», 17-19 вересня 2008 р., Запоріжжя. Патологія. – 2008. – Т.5, №3. – Ст. 22 (*Постер*).
68. Р.Б. Струтинський, О.О. Мойбенко. Основні механізми кардіопротекторних ефектів флокаліна // Бюлетень VIII – читань ім. В.В. Підвисоцького, 28-29 травня 2009 р., Одеса, С.188-189 (*Усна доповідь*).
69. Yagupolskii LM, Gorobets NYu, Petko KI, Ostras KS, Maletina II, Makitruk VL, Shalamay AS, Strutynskiy RB, Moybenko OO Fluorinated Analogs of Pinacidil: Evolution of Drug Development from the Laboratory to Production // 3rd International Conference on Drug Discovery and Therapy, February 7th - 10th, 2011, Dubai, UAE (*Публікація тез*).
70. Voitychuk O.I., Strutynskiy R.B., Shuba Y.M. Effects of ATP-dependen potassium

channel activator flocalin include sodium and calcium channels inhibition in cardiomyocytes // The Biophysical Society 55th Annual Meeting in Baltimore, Maryland, March 5-9, 2011, Biophysical J. 2011. – V.100, № 3. – P.433a (*Публікація тез*).

71. Strutytskyi R.B., Moybenko O.O. Cardioprotective effects of the new fluorine-containing opener of K_{ATP} channels flocalin // Биологически активные вещества: фундаментальные и прикладные вопросы получения и применения, 23-28 травня 2011 р., Новий Світ, Україна, С.609-610 (*Публікація тез*).
72. Мойбенко О.О., Струтинський Р.Б., Ягупольський Ю.Л., Войтичук О.И., Шуба Я.М. Возможные механизмы кардиопротекторных эффектов активации K_{ATP} каналов при ишемии-реперфузии миокарда// Бюлетень ХХ – читань ім. В.В. Підвисоцького, 26-27 травня 2011 р., Одеса, С.135-136 (*Усна доповідь*).
73. Strutytskyi R.B., Rovenets R.A., Frantsuzova S.B., Kotsiuruba A.V., Neshcheret A.P., Moibenko A.A. Influence of new opener of K_{ATP} channels of flocalin on a hemodynamic and metabolism in dogs // Научные труды III съезда физиологов СНГ. Физиология и здоровье человека, Ялта, Украина, 1-6 октября 2011 р., С.130 (*Постер*).
74. Войтичук О.И., Струтинский Р.Б., Мойбенко А.А., Шуба Я.М. Влияние фторсодержащего активатора АТФ-зависимых калиевых каналов флокалина на возбудимость и мембранные токи кардиомиоцитов // Научные труды III съезда физиологов СНГ. Физиология и здоровье человека, Ялта, Украина, 1-6 октября 2011 р., С.68 (*Усна доповідь*).
75. Струтинский Р.Б., Войтичук О.И., Шуба Я.М., Мойбенко А.А. Возможные механизмы кардиопротекторных эффектов активации K_{ATP} каналов Флокалином при ишемии-реперфузии миокарда // Пятая всероссийская школа-конференция по физиологии кровообращения, Россия, Москва, 31 января - 3 февраля 2012г (*Публікація тез*).
76. Струтинская Н.А., Струтинский Р.Б., Сагач В.Ф., Мойбенко А.А. Активация митохондриальных АТФ-зависимых калиевых каналов ингибирует открывание циклоспоринчувствительной митохондриальной поры в сердце

- крыс // VIII Всероссийская конференция с международным участием «Механизмы функционирования висцеральных систем», Россия, Санкт-Петербург, 25 – 28 сентября 2012г (*Постер*).
77. Струтинский Р.Б., Коцюруба А.В., Струтинская Н.А., Нагибин В.С., Мойбенко А.А. Возможные механизмы кардиопротекторного действия нового активатора K_{ATP} каналов препарата флокалин // Российский национальный конгресс кардиологов «Кардиология: от науки – к практике», 25-27 сентября 2013 г., Россия, Санкт-Петербург, Сборник работ. – С.15-16 (*Постер*).
 78. Струтинський Р.Б., Ровенець Р.А., Мойбенко О.О. Можливі механізми кардіопротекції при активації АТФ-чутливих калієвих каналів за ішемії-реперфузії міокарда // Матеріали VI пленуму наукового товариства патофізіологів України та науково-практичної конференції за участю міжнародних спеціалістів «Актуальні питання експериментальної та клінічної патофізіології», 23-25 вересня 2014 року, м. Вінниця, С. 101-102 (*Усна доповідь*).
 79. Струтинський Р.Б. Створення нового вітчизняного кардіопротектора та міотропного спазмолітика препарату Флокалін // Брошура «Форум “Наука. Бізнес. Інновації.” Проекти – 2015», Київ, 2015, С. 5 (*Усна доповідь*).
 80. Voronkov L., Dosenko V., Mazur I., Strutynskyi R., Horovenko N. Impact of KCNJ11 gene polymorphisms of ATP-sensitive potassium channel on left ventricular end-diastolic volume and mass in chronic systolic heart failure / Heart Failure Winter Research Meeting. – 21-23 january. – 2016. – Les Diablerets, Switzerland / HFA Winter Meeting on Translation Heart Failure research Abstract programme. – P. 25 (*Публікація тез*).
 81. Струтинський Р.Б., Струтинська Н.А., Нагібін В.С., Сагач В.Ф. Активатори K_{ATP} каналів флокалін і тіофлокалін попереджують кальційіндуковане відкривання мітохондріальної пори, апоптоз та некроз кардіоміоцитів у серці щурів // Бюлетень XV – читань ім. В.В. Підвисоцького, Одеса 2016, С.184-185 (*Публікація тез*).
 82. Воронков Л., Досенко В., Мазур І., Струтинський Р. Вплив поліморфізмів

гена KCNJ11, що кодує АТФ – чутливі калієві канали на кінцево-діастолічний об'єм та масу міокарда лівого шлуночка у хворих із систолічною хронічною серцевою недостатністю // VI Конференції Української асоціації фахівців із серцевої недостатності «Хронічна серцева недостатність в Україні: пріоритетні шляхи вирішення проблеми» // Київ, 21–22 квітня 2016 р (*Публікація тез*).

83. Воронков Л., Досенко В., Мазур І., Струтинський Р. Потенційна роль поліморфізму генів *KCNJ11* та *ABCC8*, що кодують АТФ-чутливі калієві канали, у розвитку гіпертрофії та ремоделювання міокарда // XVII національний конгрес кардіологів України // Київ, 22-23 вересня 2016 р (*Усна доповідь*) .
84. Mazur I., Voronkov L., Dosenko V., Strutynskyi R., Gorovenko N. Impact of KCNJ11 gene polymorphisms of ATP-sensitive potassium channel on left ventricular end-diastolic volume and mass in chronic systolic heart failure // “Heart Failure: state of the art” 21-24 May 2016, Florence, Italy, Europ J Heart Failure. – 2016. – V.18, № 1, P. 284 (*Публікація тез*).