УДК 612.13 + 616.73:008.331.1

І. В. Іванова, М. І. Мельник, А. І. Соловйов

Розвиток експериментального цукрового діабету пригнічує загальну калієву провідність у гладенькоm'язових клітинах аорти, але збільшує її в клітинах легеневої артерії щурів

Державна установа «Інститут фармакології та токсикології Національної академії медичних наук України», м. Київ

Ключові слова: цукровий діабет, аорта, легенева артерія, плазматична мембрана гладенькоm'язових клітин, Ca^{2+}-активовані K^+-канали великої провідності (BK_{Ca})

Відомо, що серед основних причин смертності та втрати працездатності населення України та всього світу найпоширенішими залишаються судинні ускладнення, що викликані цукровим діабетом (ЦД). ЦД здатен підвищувати ризик виникнення судинних порушень, що призводять до гострого інфаркту міокарда, атеросклерозу, артеріальної гіпертензії, інсульту, гангрени нижніх кінцівок, атеротромбозу та ін. Було показано, що ураження судин за ЦД обумовлено порушенням утилізації глюкози, оскільки її високі концентрації в плазмі крові сприяють підвищенню проникності судинної стінки для інтерстиціальної рідини та електролітів [1]. За умов ЦД в основному відзначається ураження артерій, у першу чергу, дрібного діаметра, так звані мікроангіопатії. За прогресування процесу метаболічні порушення в сукупності з додатковими факторами спричиняють ураження великих судин [2].

За результатами деяких досліджень є вагомі причини припускати, що ЦД може значною мірою впливати на легеневу мікроциркуляцію, збільшуючи товщину стінки легеневих судин, змінюючи їхній тонус та скоротливість і порушуючи газообмін у легенях, що призводить до помітної втрати легеневої функції та дихальної ефективності [3]. Крім того, в експериментах на тваринах було продемонстровано, що діабет відіграє одну з головних ролей у розвитку легеневої гіпертензії через прямий вплив гіперглікемії на легеневі судини [4, 5].

Калієві канали відіграють важливу роль у формуванні потенціалу спокою гладенькоm'язових клітин (ГМК) судин та регуляції їхнього скорочення. Пригнічення активності K^+-каналів у судинних ГМК зумовлює деполяризацію клітинної мембрани та підвищення зростання внутрішньоклітинної концентрації іонізованого кальцію ($[Ca^{2+}]_i$), викликаючи скорочення ГМК та, внаслідок цього, звуження кровоносних судин [6]. Серед чисельних типів K^+-каналів, що представлені в ГМК різних типів кровоносних судин, переважаючими для більшості артерій є Ca^{2+}-активовані K^+-канали великої провідності (BK_{Ca}), які здійснюють суттєвий вплив на регуляцію судинного тонусу через їхнє залучення до формування змін мембранного потенціалу ГМК [6–8]. BK_{Ca}-канали експресовані в усіх типах судинних ГМК, відіграючи основну роль у процесі гіперполяризації плазматичної мембрани ГМК з наступною вазодилатацією [7]. Існують дані, що активність BK_{Ca}-каналів може бути знижена за умов діабету [9]. Оскільки BK_{Ca} мають високу чутливість як до $[Ca^{2+}]_i$, так і до мембранного потенціалу, їхня дисфункція може відігравати важливу роль у патогенезі великої кількості судинних порушень, включаючи й судинні ускладнення за умов ЦД [8, 10–15].

Лікарські препарати, що застосовуються для лікування ЦД (β-блокатори, інгібітори ангіотензин-перетворюючого ферменту, Ca^{2+}-блокатори, діуретики тощо), є симптоматичними, і питання

© Колектив авторів, 2018

лікування судинних ускладнень цієї хвороби залишається досі відкритим. Тому встановлення механізмів розвитку дисфункції судин за умов розвитку ЦД і визначення основних мішеней впливу може відкрити перспективи для створення нових шляхів для її фармакологічної корекції.

Мета дослідження – встановити можливі зміни активності калієвих каналів плазматичної мембрани ГМК судин великого (аорти) та малого (основної легеневої артерії) кіл кровообігу за умов розвитку експериментального ЦД у щурів.

Матеріали та методи. Дослідження проводили з використанням свіжо-ізольованих ГМК аорти та основної легеневої артерії (ЛА) самців щурів лінії Wistar масою 170–220 г. Декапітацію тварин здійснювали після попередньої анестезії фенобарбіталом натрію (50 мг/кг). Усі досліди проводили відповідно до вимог Європейської конвенції з захисту тварин, що використовуються в експериментальних та інших цілях. У тварин видаляли судини, очищали їх від жирової та сполучної тканин, нарізали на сегменти розміром (1,5 × 3) мм, які поміщали в розчин, що містив (у ммоль/л): 120 NaCl; 6 KCl; 12 глюкози, 10 HEPES; а також 1 мг/мл папаїну (11,55 U/mg), 1 мг/мл dithiothreitol та 1 мг/мл бичачого сироваткового альбуміну. Сегменти інкубувались у термостаті (+37 °C) протягом 22 хв, після чого їх переносили в розчин аналогічного складу, але який містив 1,5 мг/мл колагенази (тип IA) замість папаїну. Тканини інкубувались у термостаті (+ 37 °C) ще протягом 15 хв, після чого їх відмивали від ферментів у безкальцієвому розчині та виділяли клітини шляхом багаторазового піпетування. Аліквоти отриманих ізольованих ГМК поміщали в розчин з нормальною концентрацією Ca^{2+}, що містив (у ммоль/л): 120 NaCl; 6 KCl; 1,2 $MgCl_2$; 2,5 $CaCl_2$; 10 HEPES; 12 глюкози; (pH = 7,4). Трансмембранні іонні струми досліджувались методом patch-clamp у конфігурації whole-cell. Фіксацію потенціалу та реєстрацію струмів здійснювали за допомогою підсилювача Axopatch 200B та аналого-цифрового перетворювача Digidata 1200B ("Axon Instruments", США). Результати аналізували за допомогою програми pCLAMP 9.0 та Origin 7.5. Скляні електроди для вимірювання трансмембранного струму виготовляли із боросилікатних скляних капілярів. Електроди, що мали опір 2,5–5,0 МОм, заповнювали розчином наступного складу (в ммоль/л): 130 KCl; 1 Na_2ATP; 1 MgATP; 0,3 EGTA; 10 глюкоза, 10 HEPES; pH 7,3.

Діабет у щурів був індукований за загальноприйнятим методом одноразовою внутрішньоочеревинною ін'єкцією стрептозотоцину (STZ), який є селективно токсичним відносно до бета-клітин острівців Лангерганса підшлункової залози, у концентрації (60–65) мг/кг [16]. Визначення експериментального діабету проводили за наявністю гіперглікемії. Концентрацію глюкози в плазмі крові вимірювали через 30 діб після ін'єкції STZ і в день експерименту в досліджуваних тварин усіх груп. STZ розчиняли в цитратному буферному розчині, який містив 9 % NaCl та 10 ммоль/л цитрату (pH = 4,6). Концентрацію глюкози визначали за допомогою глюкозометра Bionime (BIONIME Rightest GM 300, Швейцарія).

Отримані результати обробляли математично за методом варіаційної статистики за допомогою комп'ютерної програми Origin 7.5 зі знаходженням середнього арифметичного та стандартної помилки середнього значення (M ± m). Порівняння вибірок проводили за критерієм t-Стьюдента. Значення $P < 0,05$ вважали статистично достовірними.

Результати та їх обговорення. Одноразове внутрішньоочеревинне введення щурам STZ (65 мг/кг) викликало хронічну гіперглікемію. Цей показник було використано для верифікації розвитку ЦД. До початку індукції ЦД рівень глюкози в крові щурів становив (5,83 ± 0,14) ммоль/л, n = 15. На день експерименту (60–70 діб) у крові діабетичних тварин він складав (27,3 ± 3,6) ммоль/л, $P < 0,001$ порівняно зі щурами контрольної групи: (6,2 ± 0,4) ммоль/л, n = 15.

У відповідь на ступінчасту деполяризацію плазматичної мембрани ГМК від -100 до +70 мВ через кожні 3 с за під-

тримуваного потенціалу -60мВ було зафіксовано сумарний вихідний струм. Отримані дані показали, що в плазматичних мембранах ГМК аорти щурів розвиток експериментального ЦД значно знижував амплітуду щільності струму. Як демонструють криві вольт-амперних характеристик, вірогідне зниження величини струму в ГМК аорти тварин з STZ-індукованим ЦД спостерігали за більш позитивних потенціалів, ніж +10 мВ, а при максимальному рівні деполяризації мембрани (+70 мВ) його щільність становила 40,2 пА/пФ ± 3,6 пА/пФ порівняно з контролем, який становив (84,7 ± 5,1) пА/пФ (n = 8, P < 0,001; рис. 1 А).

У той самий час величина трансмембранних іонних струмів у ГМК ЛА тварин з STZ-індукованим ЦД, навпаки, значно зростала за потенціалів вище, ніж -20 мВ та в разі +70 мВ досягала (234,4 ± 17,6) пА/пФ порівняно з контролем, що складав (85,1 ± 6,3) пА/пФ (n = 7, P < 0,001; рис. 1 Б).

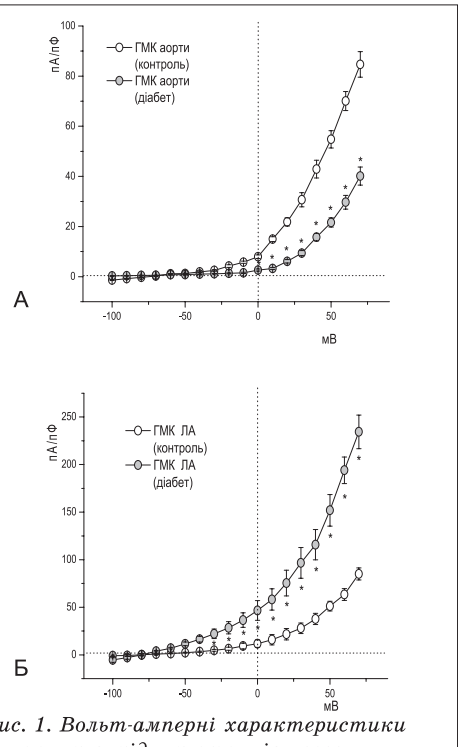


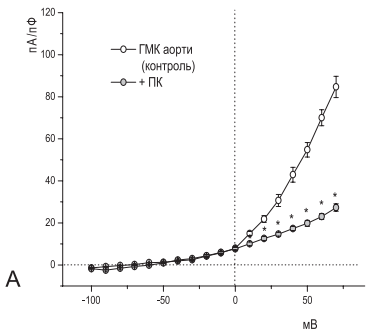
Рис. 1. Вольт-амперні характеристики сумарних вихідних струмів через плазматичну мембрану ГМК аорти (А) та основних легеневих артерій (Б) здорових щурів (контроль) і щурів з експериментальним ЦД (діабет). Струми були отримані за допомогою стимуляції клітин імпульсами тривалістю 300 мс у діапазоні від (-100 до +70) мВ, з кроком 10 мВ від підтримуваного потенціалу -60 мВ

*Примітка. *P <0,05 порівняно з контролем.*

Дія на ГМК аорти селективного блокатора $ВК_{Ca}$-каналів паксиліну (ПК, $5 \cdot 10^{-7}$ моль/л) вірогідно зменшувала амплітуду сумарного вихідного струму в контролі за потенціалів вище, ніж +10 мВ, знижуючись за +70 мВ до (27,3 ± 1,8) пА/пФ (n = 8, P < 0,001; рис. 2 А). За умов ЦД вплив ПК, навпаки, змінював щільність сумарного вихідного струму в значно меншому ступені: його величина зменшувалась лише за максимальної деполяризації мембрани (+70 мВ) до (29,5 ± 3,3) пА/пФ (n = 8, P < 0,05, рис. 2 Б). За дії ПК на ГМК ЛА як контрольних щурів, так і щурів з ЦД величина трансмембранного $К^+$-струму за +70 мВ достовірно зменшувалась до (56,1 ± 5,5) пА/пФ та до (166,9 ± 14,8) пА/пФ відповідно (рис. 3 А і рис. 3 Б).

Таким чином, отримані дані свідчать про те, що ЦД викликає значне пригнічення амплітуди калієвих струмів через плазматичну мембрану ГМК аорти щурів, що проявляється зниженням провідності через її канали. Це може бути одним з факторів, що можуть призвести до зменшення вазодилататорного потенціалу та розвитку гіпертонусу стінки судин внаслідок розвитку ЦД.

Результати також показали, що найбільшою складовою частиною сумарного вихідного струму ГМК аорти здорових щурів є його паксилін-чутливий компонент, тобто струм через $ВК_{Ca}$-канали, величина якого була значно знижена за ЦД. Тобто, можна припустити, що пригнічення щільності загального вихідного струму за умов ЦД відбувається за рахунок різкого зменшення активності $ВК_{Ca}$-каналів. Зниження величини $ВК_{Ca}$-струму в ГМК діабетичних тварин було також показано й у деяких дослідженнях на інших типах судин: ГМК брижових артерій щурів, артеріол сітківки щурів і коронарних артерій мишей [15, 17–19]. Пригнічення амплітуди калієвих струмів у судинних ГМК за умов ЦД може бути наслідком зниження активності потенціал-



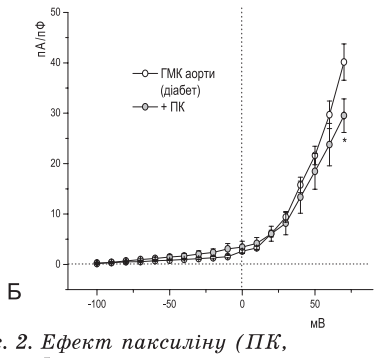
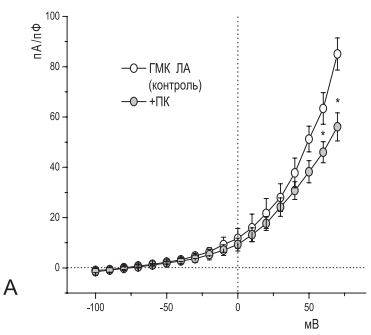


Рис. 2. Ефект паксиліну (ПК, $5 \cdot 10^{-7}$ моль/л) на вихідні калієві струми в ГМК аорти щурів контрольної групи (А) і щурів з експериментальним ЦД (Б). Струми були отримані за допомогою стимуляції клітин імпульсами тривалістю 300 мс у діапазоні (-100 – +70) мВ, з кроком 10 мВ від підтримуваного потенціалу -60 мВ

*Примітка. Тут і на рис. 3: *P < 0,05.*



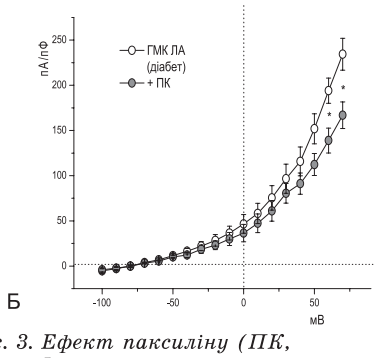


Рис. 3. Ефект паксиліну (ПК, $5 \cdot 10^{-7}$ моль/л) на вихідні калієві струми в ГМК основної легеневої артерії (ЛА) щурів контрольної групи (А) та щурів з експериментальним ЦД (Б). Струми були отримані за допомогою стимуляції клітини імпульсами тривалістю 300 мс у діапазоні (-100 – +70) мВ, з кроком 10 мВ від підтримуваного потенціалу -60 мВ

залежних Ca^{2+}-каналів L-типу і, відповідно, вхідного Ca^{2+}-струму, який саме й обумовлює активацію BK_{Ca}-каналів [20].

Аналіз даних дослідження свідчить, що, на відміну ГМК аорти, у ГМК ЛА активність BK_{Ca}-каналів не змінювалась за умов діабету, незважаючи на те, що загальний K^+-струм значно зростав. Показано також, що трансмембранний струм через BK_{Ca}-канали в ГМК ЛА був виражений у значно меншому ступені порівняно з цим параметром аортальних ГМК, що може бути наслідком зниженої активності β_1-субодиниці в BK_{Ca}-каналах ЛА [21].

Результати дослідження демонструють, що значне підвищення величини щільності K^+-струму не пов'язане з активацією BK_{Ca}-каналів, а отже, причиною цього феномена можуть бути зміни активності інших типів K^+-каналів. Проблема впливу ЦД на ЛА сьогодні вивчена недостатньо, отже досить складно припустити, K^+-канали саме якого типу активуються. Відомо, що крім BK_{Ca}-каналів, у ГМК ЛА у достатній мірі експресовані потенціалзалежні K^+-канали (K_V), яким притаманне значне пригнічення своєї функціональної активності в ГМК ЛА за розвитку таких судинних порушень, як легенева гіпертензія та хронічна гіпоксія [22–25], у той час як BK_{Ca}-канали за цих умов характеризуються підвищенням експресії та провідності [26]. Проте існують дані, що за умов ЦД експресія K_V-каналів у ГМК ЛА не пригнічується [25], отже можуть бути доцільними подальші дослідження цього типу каналу щодо виявлення механізму зростання величини калієвого струму за ЦД. Разом з тим, враховуючи, що BK_{Ca}-канали виявили стійкість

до впливу ЦД, то, не зважаючи на те, що наші результати не показали зростання їхньої активності, подальші дослідження з використанням більш точних методів можуть все ж її виявити. Дослідження в цьому напрямі можуть бути найперспективнішими, оскільки саме в ГМК ЛА $ВК_{Ca}$-канали проявляють стійкість та навіть підвищення рівня експресії за судинних розладів [26, 27].

Висновки

1. ЦД викликає значне пригнічення амплітуди калієвих струмів через плазматичну мембрану ГМК аорти щурів, що може призводити до зменшення вазодилататорного потенціалу та розвитку гіпертонусу стінки аорти.
2. Величина трансмембранних іонних струмів у ГМК ЛА тварин з ЦД різко збільшувалася за потенціалів вище, ніж -20 мВ порівняно з контролем, що проявлялося зростанням провідності через її канали.
3. Дія на ГМК аорти селективного блокатора $ВК_{Ca}$-каналів паксиліну (ПК, $5 \cdot 10^{-7}$ моль/л) вірогідно зменшувала амплітуду сумарного вихідного струму в контролі за потенціалів вище, ніж +10 мВ, у той час як за умов ЦД вплив ПК змінював щільність сумарного вихідного струму в значно меншому ступені, що свідчить про зниження активності саме $ВК_{Ca}$-каналів.
4. За дії ПК на ГМК ЛА як контрольних щурів, так і щурів з ЦД величина трансмембранного $К^+$-струму зменшувалася за потенціалів вище, ніж +60 мВ, тобто активність $ВК_{Ca}$-каналів за умов діабету не змінювалася порівняно з контролем.

1. Emerging risk factors collaboration. Diabetes mellitus, fasting blood glucose concentration, and risk of vascular disease: a collaborative meta–analysis of 102 prospective studies / N. Sarvar, P. Gaio, S. R. Seshasai [et al.] // Lancet. – 2010. – V. 375, № 9733. – P. 2215–2222.
2. Follow up report on the diagnosis of diabetes mellitus: The expert committee on the diagnosis and classification of diabetes mellitus (11 November.- 2003). Diabetes Care. – 2003. – V. 26, № 31. – P. 60–7.
3. Pulmonary complications in diabetes mellitus: the role of glycemic control / D. Ardigo, S. Valtuena, I. Zavaroni [et al.] // Current drug targets–Inflammation & Allergy. – 2004. – V. 3, № 4. – P. 455–458.
4. Pulmonary arterial hypertension is linked to insulin resistance and reversed by peroxisome proliferator-activated receptor-gamma activation / G. Hansmann, R. A. Wagner, S. Schellong [et al.] // Circulation. – 2007. – V. 115 (10). – P. 1275–1284.
5. Insulin resistance in pulmonary arterial Hypertension / R. T. Zamanian, G. Hansmann, S. Snook [et al.] // Eur. Respir. J. – 2009. – V. 33. – P. 318–324.
6. Studies of mortality of atomic bomb survivors. Report 13: Solid cancer and noncancer disease mortality: 1950–1997 / D. L. Preston, Y. Shimizu, D. A. Pierce [et al.] // Radiation Research. – 2003. – V. 160. – P. 381–407.
7. *Nelson M. T*. Physiological roles and properties of potassium channels in arterial smooth muscle / M. T. Nelson, J. M. Quayle // American Journal of Physiology. – 1995. – V. 268. – P. C799–C822.
8. Vasodilation of retinal arterioles induced by activation of BK_{Ca} channels is attenuated in diabetic rats / A. Mori, S. Suzuki, K. Sakamoto [et al.] // European Journal of Pharmacology. – 2011. – V. 669, № 1–3. – P. 94–99.
9. *Miller J. A.* Relationship between diurnal blood pressure, renal hemodynamic function, and the renin-angiotensin system in type 1 diabetes. / J. A. Miller, J. R. Curtis, E. B. Sochett // Diabetes. – 2003. – V. 52, №7. – P. 1806–1811.
10. Ionizing non-fatal whole-body irradiation inhibits Ca^{2+}dependent K^+ channels in endothelial cells of coronary artery: possible contribution to depression of endothelium-dependent vascular relaxation / S. Tishkin, V. Rekalov, I. Ivanova [et al.] // International Journal of Radiation Biology. – 2007. – V. 83. – P. 161–169.
11. *Erdös B*. Alterations in K_{ATP} and K_{Ca} channel function in cerebral arteries of insulin-resistant rats / B. Erdös, A. W. Miller, D. W. Busija // Am. J. Physiol. Heart. Circ. Physiol. – 2002. – V. 283. – P. H2472–H2477.
12. Calcium-activated potassium channels contribute to human skeletal muscle microvascular endothelial dysfunction related to cardiopulmonary bypass / Y. Liu, E. W. Sellke, J. Feng [et al.] // Surgery. – 2008. – V. 144, № 2. – P. 239–244.
13. *Soloviev A*. Quercetin-filled phosphatidylcholine liposomes restore abnormalities in rat thoracic aorta BK_{Ca} channel function following ionizing irradiation / A. Soloviev, S. Tishkin, S. Kyrychenko // Acta Physiologica Sinica. – 2009. – V. 61, № 3. – P. 201–210.
14. Calcium-activated potassium channels contribute to human coronary microvascular dysfunction after cardioplegic arrest / J. Feng, Y. Liu, R.T. Clements [et al.] // Circulation. – 2008. – V. 118, Suppl. 14. – P. S46–S51.

15. Diabetes downregulates large-conductance Ca^{2+}-activated potassium β_1 channel subunit in retinal arteriolar smooth muscle / M. K. McGahon, D. P. Dash, A. Arora [et al.] // Circ. Res. – 2007. – V. 100. – P. 703–711.
16. Rho kinase and protein kinase C involvement in vascular smooth muscle myofilament calcium sensitization in arteries from diabetic rats / I. V. Kizub, O. O. Pavlova, C. D. Johnson [et al.] // British Journal of Pharmacology. – 2010. – V. 159. – P. 1724–1731.
17. *Burnham M. P.* Reduced Ca^{2+}-dependent activation of large-conductance Ca^{2+}-activated K^+channels from arteries of type 2 diabetic Zucker diabetic fatty rats / M. P. Burnham, I. T. Johnson, A. H. Weston // Am. J. Physiol. Heart. Circ. Physiol. – 2006. – V. 290. – P. H1520–H1527.
18. Potassium (BK_{Ca}) currents are reduced in microvascular smooth muscle cells from insulin-resistant rats / C. Dimitropoulou1, G. Han, A.W. Miller, [et al.] // Am. J. Physiol. Heart. Circ. Physiol. – 2002. – V. 282. – P. H908–H917.
19. Calcium-activated potassium channels and the regulation of vascular tone / J. Ledoux, M. E. Werner, J. E. Brayden [et al.] // Physiology – 2006. – V. 21, № 1. – P. 69–78.
20. Altered L-type Ca^{2+} channel currents in vascular smooth muscle cells from experimental diabetic rats / R. Wang, Y. Wu, G. Tang [et al.] // Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol. – 2000. – V. 278. – P. H714–H722.
21. Distinct activity of BK channel β_1-subunit in cerebral and pulmonary artery smooth muscle cells / Y-M. Zheng, S. W. Park, L. Stokes [et al.] // Am J Physiol. – 2013. – V. 304. – P. 780–789.
22. Dysfunctional voltage-gated K^+ channels in pulmonary artery smooth muscle cells of patients with primary pulmonary hypertension / Yuan J. X-J., Aldinger A. M., Juhaszova M. [et al.] // Circulation. – 1998. – V. 98 (14). – P. 1400–1406.
23. Chronic hypoxia inhibits K_V channel gene expression in rat distal pulmonary artery / J. Wang, L. Weigand, W. Wang [et al.] // Am J Physiol. – 2005. – V. 288 (6). – P. 1049–1058.
24. *Platoshyn O*. Acute hypoxia selectively inhibits KCNA5 channels in pulmonary artery smooth muscle cells / O. Platoshyn, E. E. Brevnova, E. D. Burg // Am J. Physiol 2006. – V. 290 (3). – P. 907–916.
25. *Moral-Sanz J*. Different patterns of pulmonary vascular disease induced by type 1 diabetes and moderate hypoxia in rats / J. Moral-Sanz , J. G. Lopez-Lopez, C. Menendez // Exp Physiol. – 2012. – V. 97, № 5. – P. 676–86.
26. BK channels in rat and human pulmonary smooth muscle cells are BKα-β_1 functional complexes lacking the oxygen-sensitive stress axis regulated exon insert / N. D.Detweiler, L. Song, S. J. McClenahan [et al.] // Pulm Circ. – 2016. – V. 6 (4). – P. 563–575.
27. Oxygen tension modulates the expression of pulmonary vascular BK_{Ca} channel α- and β-subunits / E. Resnik, J. Herron, R. Fu [et al.]. // Am J Physiol. – 2005. – V. 290 (4). – P. 761–768.

І. В. Іванова, М. І. Мельник, А. І. Соловйов

Розвиток експериментального цукрового діабету пригнічує загальну калієву провідність у гладеньком'язових клітинах аорти, але збільшує її в клітинах легеневої артерії щурів

Цукровий діабет (ЦД) здатен спричиняти ураження різних типів кровоносних судин, призводячи до їхньої дисфункції. Важливу роль у регуляції тонусу та скорочення гладеньком'язових клітин (ГМК) судин відіграють Ca^{2+}-активовані K^+-канали великої провідності (BK_{Ca}), які здійснюють суттєвий вплив на регуляцію судинного тонусу через їхнє залучення до формування змін мембранного потенціалу ГМК.

Мета дослідження – встановити можливі зміни активності калієвих каналів плазматичної мембрани ГМК аорти та основної легеневої артерії (ЛА) за умов розвитку стрептозотоцин-індукованого ЦД у щурів.

Дослідження проводили з використанням свіжо-ізольованих ГМК аорти та основної легеневої артерії (ЛА) самців щурів лінії Wistar. Трансмембранні іонні струми досліджувались методом patch-clamp у конфігурації whole-cell.

Встановлено, що ЦД викликає значне пригнічення амплітуди калієвих струмів через плазматичну мембрану ГМК аорти щурів. Величина вихідних калієвих струмів у ГМК ЛА тварин з ЦД, навпаки, різко збільшувалась при потенціалах вище, ніж -20 мВ.

Дія на ГМК аорти селективного блокатора BK_{Ca}-каналів паксиліну (ПК, $5 \cdot 10^{-7}$ моль/л) вірогідно зменшувала амплітуду сумарного вихідного струму в контролі при потенціалах вище, ніж +10 мВ, у той час як за умов ЦД вплив ПК змінював щільність сумарного вихідного струму в значно меншому ступені. За дії ПК на ГМК ЛА як контрольних щурів, так і щурів з ЦД величина трансмембранного K^+-струму зменшувалась однаково, тобто активність BK_{Ca}-каналів за умов діабету не змінювалась, незважаючи на те, що загальний K^+-струм за цих умов значно зростав.

Таким чином, ЦД викликав зниження величини трансмембранних K^+-струмів у ГМК аорти щурів за рахунок пригнічення активності BK_{Ca}-каналів, у той час як суттєве зростання загальної калієвої провідності не було пов'язане з активністю BK_{Ca}-каналів.

Ключові слова: цукровий діабет, аорта, легенева артерія, плазматична мембрана гладеньком'язових клітин, Ca^{2+}-активовані K^+-канали великої провідності (BK_{Ca})

И. В. Иванова, М. И. Мельник, А. И. Соловьев

Развитие экспериментального сахарного диабета подавляет общую калиевую проводимость в гладкомышечных клетках аорты, но увеличивает ее в клетках легочной артерии крыс

Сахарный диабет (СД) способен вызывать поражения различных типов кровеносных сосудов, приводя к их дисфункции. Важную роль в регуляции тонуса и сокращения гладкомышечных клеток (ГМК) сосудов играют Ca^{2+}-активированные K^+-каналы большой проводимости (BK_{Ca}), которые оказывают существенное влияние на регуляцию сосудистого тонуса посредством формирования изменений мембранного потенциала ГМК.

Цель исследования – установить возможные изменения активности калиевых каналов плазматической мембраны ГМК сосудов аорты и основной легочной артерии (ЛА) в условиях развития стрептозотоцин-индуцированного СД у крыс.

Исследования проводили с использованием свежеизолированных ГМК аорты и основной легочной артерии (ЛА) самцов крыс линии Wistar. Трансмембранные ионные токи исследовали методом patch-clamp в конфигурации whole-cell.

Установлено, что СД вызывает значительное угнетение амплитуды калиевых токов в ГМК аорты крыс. Величина выходящих калиевых токов в ГМК ЛА животных с СД, наоборот, резко увеличивалась при потенциалах выше, чем -20 мВ.

Воздействие на ГМК аорты блокатора ВКСа-каналов паксиллина (ПК, $5 \cdot 10^{-7}$ моль) достоверно уменьшало амплитуду суммарного выходящего тока в контроле при потенциалах выше, чем +10 мВ, в то время как в условиях СД влияние ПК изменяло плотность суммарного выходящего тока в значительно меньшей степени. При действии ПК на ГМК ЛА как контрольных крыс, так и крыс с СД величина трансмембранного K^+-тока одинаково уменьшалась, то есть активность BK_{Ca}-каналов в условиях диабета не изменялась, несмотря на то, что общий K^+-ток при этом значительно возрастал.

Таким образом, влияние СД вызывало снижение величины трансмембранных K^+-токов в ГМК аорты крыс за счет подавления активности BK_{Ca}-каналов, в то время как значительное возрастание общей калиевой проводимости не было связано с активностью BK_{Ca}-каналов.

Ключевые слова: сахарный диабет, аорта, легочная артерия, плазматическая мембрана гладкомышечных клеток, Ca^{2+}-активированные K^+-каналы большой проводимости (BK_{Ca})

I.V. Ivanova, M. I. Melnyk, A. I. Soloviev

Experimental diabetes mellitus inhibits the total potassium conduction in the rat aorta smooth muscle cells, but increases it in the rat pulmonary artery cells

Diabetes mellitus (DM) severely damages various types of blood vessels, leading to their dysfunction. Large conductance calcium-dependent K^+ channels (BK_{Ca}) play an important role in vascular tone regulation and smooth muscle cells (SMCs) contractility. This type of ion channels has a significant role in the vascular tone regulation due to its involvement to the membrane potential regulation in the SMCs. The study purpose was to determine the possible changes of the potassium channels activity in the rat aorta SMCs comparatively to the rat main pulmonary artery (PA) SMCs in streptotrozine-induced DM.

The studies were conducted using freshly-isolated SMCs from aorta and main pulmonary artery (LA) of male Wistar rats. Trans-membrane ionic currents were studied using the patch-clamp method in the whole-cell configuration.

It has been established that DM causes a significant inhibition of the outward potassium currents amplitude in the aortic SMCs. Contrary, the total outward potassium currents amplitude in diabetic SMCs from rat PA sharply increased at potentials higher than -20 mV.

Selective BK_{Ca}-channels blocker, paxillin (Pax, $5 \cdot 10^{-7}$ M), reduced the total outward current amplitude in the control at potentials higher than +10 mV, while Pax decreased the total current density in the diabetic SMC in significantly lesser degree. Pax equally reduced K^+-currents in SMCs from PA in both control rats and rats with DM, indicating that the BK_{Ca}-channels activity did not change in diabetes despite the total K^+-current was significantly increased. Thus, the DM decreased the trans-membrane K^+-currents amplitude in the rat aorta SMCs mainly due to inhibiting of the BK_{Ca}-channels activity, while a significant increase in total potassium conductivity in SMC of PA was not associated with BK_{Ca}-channels activity.

Key words: diabetes mellitus, aorta, pulmonary artery, plasma membrane of smooth muscle cells, large conductance calcium-dependent K^+channels (BK_{Ca})

Надійшла: 12 березня 2018 р.

Контактна особа: Іванова Ірина Володимирівна, старший науковий співробітник, відділ фармакології клітинних сигнальних систем та експериментальної терапії, ДУ «Інститут фармакології та токсикології НАМН України», буд. 14, вул. Антона Цедіка, м. Київ, 03057. Тел.: + 38 0 44 456 02 88.